



(19) RU (11) 2 128 055 (13) C1
(51) МПК⁶ A 61 K 38/04, 47/30

РОССИЙСКОЕ АГЕНТСТВО
ПО ПАТЕНТАМ И ТОВАРНЫМ ЗНАКАМ

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ПАТЕНТУ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

- (21), (22) Заявка: 95114533/14, 07.12.1993
(30) Приоритет: 07.12.1992 JP 04-327070
05.02.1993 JP 05-018978
(46) Дата публикации: 27.03.1999
(56) Ссылки: 1. EP 0481732 A1, 22.04.92. 2. EP 0486959 A1, 27.05.92. 3. DE 3822459 A1, 30.03.89. 4. DE 3822557 A1, 19.01.89. 5. DE 4036425 A1, 16.05.91. 6. SU 1055096 A, 25.01.85.
(85) Дата перевода заявки PCT на национальную фазу: 06.06.95
(86) Заявка PCT:
JP 93/01773 (07.12.93)
(87) Публикация PCT:
WO 94/13317 (23.06.94)
(98) Адрес для переписки:
103735, Москва, ул. Ильинка, 5/2, Союзпатент

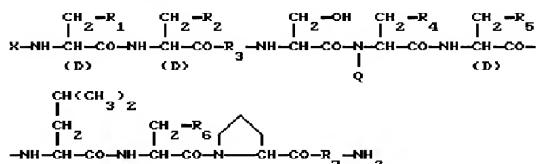
- (71) Заявитель:
Такеда Кемикал Индастриз Лтд. (JP)
(72) Изобретатель: Сигеру Камеи (JP),
Йасутака Игари (JP), Йасиаки Огава (JP)
(73) Патентообладатель:
Такеда Кемикал Индастриз Лтд. (JP)

(54) ФАРМАЦЕВТИЧЕСКАЯ КОМПОЗИЦИЯ ЗАМЕДЛЕННОГО ВЫСВОБОЖДЕНИЯ И СПОСОБ ЕЕ ПОЛУЧЕНИЯ

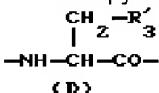
R
U
2
1
2
8
0
5
G
C
1

(57) Реферат:

Изобретение относится к области медицины. Фармацевтическая композиция замедленного высвобождения, которая включает физиологически активный пептид общей формулы



в которой X обозначает ацилgrуппу; R₁, R₂ и R₄ каждый представляет ароматическую циклическую группу; R₃-D - аминокислотный остаток или группу формулы



В которой R₃ обозначает

гетероциклическую группу; R₅ - группу формулы -(CH₂)_n-R'₅, в которой n=2 или 3, и R'₅ обозначает аминогруппу, которая необязательно может быть замещенной, ароматическую циклическую группу или 0-гликозилгруппу; R₆ представляет группу формулы -(CH₂)_n-R'₆ в которой n=2 или 3, и R₆ является аминогруппой, которая может быть необязательно замещенной; R₇-D - аминокислотный остаток или азаглицил-остаток, и Q обозначает водород или низшую алкилгруппу, или его соль и биоразлагаемый полимер, имеющий концевую карбоксильную группу. Композицию получают растворением смеси компонентов в растворителе, не смешивающемся с водой с его последующим удалением. Препарат замедленного высвобождения позволяет получить непрерывное выделение пептида в течение длительного времени и не обладает начальным выбросом по сравнению с подобными композициями. 3 с. и 22 з.п. ф.-лы, 10 табл.

R
U
2
1
2
8
0
5
G
C
1



(19) RU (11) 2 128 055 (13) C1
(51) Int. Cl. 6 A 61 K 38/04, 47/30

RUSSIAN AGENCY
FOR PATENTS AND TRADEMARKS

(12) ABSTRACT OF INVENTION

(21), (22) Application: 95114533/14, 07.12.1993

(30) Priority: 07.12.1992 JP 04-327070
05.02.1993 JP 05-018978

(46) Date of publication: 27.03.1999

(85) Commencement of national phase: 06.06.95

(86) PCT application:
JP 93/01773 (07.12.93)

(87) PCT publication:
WO 94/13317 (23.06.94)

(98) Mail address:
103735, Moskva, ul.Ill'inka, 5/2, Sojuzpatent

(71) Applicant:
Takeda Kemikal Indastriz Ltd. (JP)

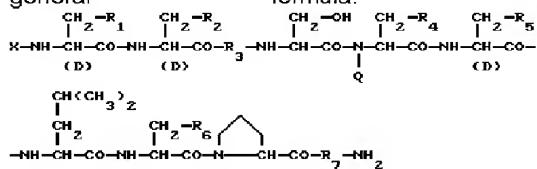
(72) Inventor: Sigeru Kamei (JP),
Jasutaka Igari (JP), Jasiaki Ogava (JP)

(73) Proprietor:
Takeda Kemikal Indastriz Ltd. (JP)

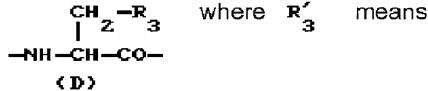
(54) PHARMACEUTICAL COMPOSITION OF THE DELAYED AGENT RELEASING AND A METHOD OF ITS PREPARING

(57) Abstract:

FIELD: medicine, pharmacy. SUBSTANCE: invention relates to a composition that has a physiologically active peptide of the general formula:



where X means acyl-group; R₁, R₂ and R₄ each means aromatic cyclic group; R₃ means a residue of D-amino acid or a group of the formula:



heterocyclic group; R₅ means a group of the formula $-(\text{CH}_2)_n-\text{R}'_5$ where n = 2 or 3,

and R'₅ means amino-group that can be substituted optionally, aromatic cyclic group or O-glycosyl-group; R₆ means a group of the formula $-(\text{CH}_2)_n-\text{R}'_6$ where n = 2 or 3, and R'₆ means amino-group that can be substituted optionally; R₇ means a residue of D-amino acid or azaglycyl-residue; Q means hydrogen atom or lower alkyl-group, or its salt and biodegradable polymer bearing a terminal carboxyl-group. Composition is prepared by dissolving of components mixture in water-insoluble solvent followed by solvent removing. Preparation of delayed releasing ensures to obtain noncontinuous release of peptide for the long time without initial release as compared with the known similar compositions. EFFECT: improved method of preparing, enhanced effectiveness of composition proposed. 25 cl, 9 tbl, 45 ex

R
U
2
1
2
8
0
5
G
C
1

C 1
2
8
0
5
5
C 1

RU 2128055 C1

R
U
2
1
2
8
0
5
5
C
1

Настоящее изобретение относится к фармацевтическим композициям замедленного высвобождения, содержащим физиологически активный пептид, и способам его получения.

Предшествующая техника включает, как раскрыто в ЕР-А-481732, препарат замедленного высвобождения содержащий лекарственное средство, полимолочную кислоту и сополимер гликолевой кислоты - оксикарбоновой кислоты [НОСН(С₂-алкил)СООН]. Раскрытый способ включает приготовление W/O (эмulsionя типа "вода в масле") эмульсии, содержащей внутреннюю водную фазу включающую водный раствор физиологически активного пептида и внешнюю масляную фазу, включающую раствор биологически разлагаемого полимера в органическом растворителе, добавление названной W/O эмульсии к воде или водной среде и переработку образовавшейся W/O/W эмульсии в микрокапсулы замедленного высвобождения (способ высушивания в воде).

Выложенная заявка Японии 118512/1982 описывает микрокапсулу, включающую гормонально активный полипептид, биоразлагаемый полимер и вещество, регулирующее гидролиз. Раскрытый для ее производства способ представляет способ коацервации, который включает добавление коацервирующего агента к W/O эмульсии, состоящей из водного раствора полипептида в качестве внутренней водной фазы и галоидированного органического растворителя в качестве масляной фазы с целью производства микрокапсул.

Выложенная заявка Японии 121222/1989 описывает фармацевтическую композицию, включающую полилактид, полигликолид, сополимер молочной кислоты - гликолевой кислоты или смесь этих полимеров и нерастворимый в воде пептид. Раскрыт также способ производства, который включает диспергирование соли нерастворимого в воде пептида в растворе названного полилактида, полигликозида, сополимера молочной кислоты - гликолевой кислоты или смеси этих полимеров, удаление растворителя упариванием и сплавление образовавшейся смеси в твердые частицы.

Выложенная заявка Японии 1506091/1982 описывает способ получения фармацевтической композиции, включающей полилактид и кислотостойкий полипептид, который, например, включает растворение тетрагастрин гидрохлорида и полилактида в водном диоксане, отливку раствора в пленку и упаривание растворителя.

ЕР-А-0467389 дает технологию обеспечения системы отпуска лекарственного средства для протеинов и полипептидов использованием метода полимерного осаждения или метода микросфер. Однако, данная литература не содержит конкретного описания системы, включающей LH-RH производное.

Высвобождающий гормоны лютеинизирующий гормон, известный как LH-RH (или GnRH), выделяется гипоталамусом и связывается с рецепторами гипофиза. LH (лютеинизирующий гормон) и FSH (фолликулостимулирующий гормон), которые вслед за тем высвобождаются, действуют на гонаду, синтезируя стероидные

гормоны. Известно существование как агонистического, так и антагонистического пептидов в виде производных LH-RH. Когда высоко агонистический пептид вводится неоднократно, число доступных рецепторов сокращается, так что гонадо-вырабатывающие стероидные гормоны подавляются. Поэтому предполагается, что LH-RH производные будут обладать ценностью в качестве терапевтических средств при заболеваниях, связанных с гормональной зависимостью, таких как рак предстательной железы, доброкачественная гипертрофия предстательной железы, эндометриоз, миома матки, фиброма матки, преждевременное половое созревание, рак молочной железы, и т.д. или в качестве противозачаточных средств.

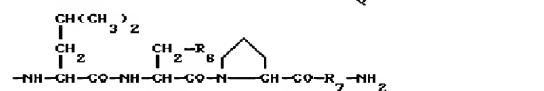
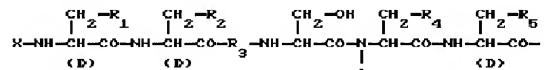
В частности проблема гистамин-высвобождающей активности отмечалась для LH-RH антагонистов так называемых первого и второго поколений (The Pharmacologicals 32, 1599-1605, 1990), но после этого был синтезирован ряд соединений и недавно получены LH-RH-противодействующие пептиды, имеющие незначительную гистамин-высвобождающую активность (сравни, например, Фармакопея США N 5110904). Для того, чтобы любой такой LH-RH противодействующий пептид проявил свое фармакологическое действие, необходима система, контролирующая высвобождение таким образом, чтобы конкурирующее ингибирование эндогенного LH-RH могло быть устойчивым. Кроме того, поскольку гистамин-высвобождающая активность может быть низкой, но все же присутствует в таких пептидах, возникает потребность в препарате замедленного высвобождения с ингибионным начальным импульсом, следующим непосредственно за введением.

В частности, в случае препарата замедленного высвобождения (например, 1-3 месяца) важно обеспечить более надежное и постоянное высвобождение пептида с целью достижения этой заданной эффективности с большей степенью уверенности и безопасности.

В то же время давно ощущается потребность в способе приготовления препарата замедленного высвобождения, имеющего высокую степень удержания пептида для физиологически активного пептида, в частности LH-RH противодействующих пептидов.

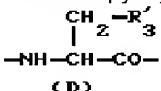
Согласно настоящему изобретению обеспечивается:

1) Препарат замедленного высвобождения, который включает физиологически активный пептид общей формулы I



C1 5 5 0 8 2 1 RU

остаток или группу формулы



в которой R'_3 обозначает гетероциклическую группу;

R'_5 представляет группу формулы $-(\text{CH}_2)_n-\text{R}'_5$, в которой $n = 2$ или 3 и R'_5 обозначает аминогруппу, которая необязательно может быть замещенной, ароматическую циклическую группу или О-гликозилгруппу.

R'_6 представляет группу формулы $-(\text{CH}_2)_n-\text{R}'_6$, в которой $n = 2$ или 3, R'_6 является аминогруппой, которая может быть необязательно замещенной;

R'_7 обозначает D-аминокислотный остаток или азаглицил остаток;

Q обозначает водород или низшую алкильную группу, или его соль и биоразлагаемый полимер, имеющий концевую карбоксильную группу.

2) Препарат замедленного высвобождения по п. 1, приведенному выше, в котором X обозначает C_{2-7} -алканоилгруппу, которая может быть необязательно замещенной 5- или 6-членной гетероциклической карбоксамидогруппой.

3) Препарат замедленного высвобождения по приведенному выше п. 2, в котором X обозначает C_{2-4} -алканоилгруппу, которая может необязательно быть замещенной тетрагидрофурилкарбоксамидогруппой.

4) Препарат замедленного высвобождения по приведенному выше п. 1, в котором X представляет ацетил.

5) Препарат замедленного высвобождения по приведенному выше п. 1, в котором биоразлагаемый полимер является смесью (A) сополимера гликоловой кислоты и оксиарбоновой кислоты общей формулы II



в которой R представляет алкильную группу с 2-8 атомами углерода, и (B) полимолочной кислоты.

6) Препарат замедленного высвобождения по приведенному выше п. 1, в котором X представляет ацетил, и биоразлагаемый полимер представляет смесь (A) сополимера гликоловой кислоты и оксиарбоновой кислоты общей формулы II.



в которой R представляет алкильную группу с 2-8 атомами углерода, и (B) полимолочной кислоты.

7) Препарат замедленного высвобождения по приведенному выше п. 5, в котором сополимер имеет средневесовой молекулярный вес приблизительно от 2000 до 50000, определенный GPC (гель проникающей хроматографией).

8) Препарат замедленного высвобождения по приведенному выше п. 5, в котором сополимер имеет степень дисперсности приблизительно от 1,2 до 4,0.

9) Препарат замедленного высвобождения по приведенному выше п. 5, в котором полимолочная кислота имеет средневесовой молекулярный вес приблизительно от 1500 до

30000 определенный GPC.

10) Препарат замедленного высвобождения по приведенному выше п. 5, в котором полимолочная кислота имеет степень дисперсности приблизительно от 1,2 до 4,0.

11) Препарат замедленного высвобождения по приведенному выше п. 1, в котором биоразлагаемый полимер представляет сополимер молочной кислоты и гликоловой кислоты.

12) Препарат замедленного высвобождения по приведенному выше п. 11, в котором сополимер имеет средневесовой молекулярный вес приблизительно от 5000 до 25000, определенный GPC.

13) Препарат замедленного высвобождения по приведенному выше п. 11, в котором сополимер имеет степень дисперсности приблизительно от 1,2 до 4,0.

14) Препарат замедленного высвобождения по приведенному выше п. 1, в котором доля физиологически активного пептида находится в интервале приблизительно от 0,01 до 50% (вес/вес) относительно биоразлагаемого полимера.

15) Препарат замедленного высвобождения по приведенному выше п. 1, в котором физиологически активный пептид является LH-RH антагонистом.

16) Препарат замедленного высвобождения по приведенному выше п. 1, в котором физиологически активный пептид представляет:

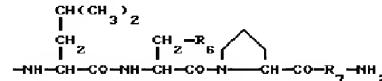
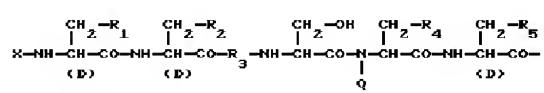


или его ацетат.

17) Препарат замедленного высвобождения по приведенному выше п. 1, в котором физиологически активный пептид представляет собой NAcD2Nal-D4ClPhe-D3Pal-Ser-NMeTyr-DLys(Ni c)-Leu-Lys(Nisp)-Pro-DAlaNH₂ или его ацетат.

18) Препарат замедленного высвобождения по приведенному выше п. 1, в котором физиологически активный пептид представляет собой NAcD2Nal-D4ClPhe-D3Pal-Ser-Tyr-DhArg(Et₂) -Leu-hArg(Et₂)-Pro-DAlaNH₂ или его ацетат.

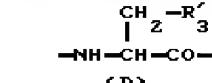
19) Способ получения препарата замедленного высвобождения, который включает растворение физиологически активного пептида общей формулы I



в которой X представляет ацилгруппу;

R_1 , R_2 и R_4 каждый представляет ароматическую циклическую группу;

R_3 представляет D-аминокислотный остаток или группу формулы



в которой R'_3 обозначает гетероциклическую группу;

RU 2128055 C1

R_5 представляет группу формулы $-(CH_2)_n-R'_5$, в которой $n = 2$ или 3 и R'_5 является аминогруппой, которая может быть необязательно замещенной, ароматической циклической или О-гликозил группой;

R_6 представляет группу формулы $-(CH_2)_n-R'_6$, в которой $n = 2$ или 3 и R'_6 является аминогруппой, которая может быть необязательно замещенной;

R_7 представляет D-аминокислотный остаток или азаглицил остаток; и

Q обозначает водород или низшую алкильную группу,

или его соли и биоразлагаемого полимера, имеющего концевую гидроксильную группу в растворителе, который является в основном не смешиваемым с водой, и затем удаление названного растворителя.

20) Способ по приведенному выше п. 19, в котором биоразлагаемый полимер является смесью (A) сополимера гликолевой кислоты и оксикарбоновой кислоты общей формулы II



в которой R представляет алкильную группу с 2-8 атомами углерода, и (B) полимолочной кислоты.

21) Способ по приведенному выше п. 19, в котором X является ацетилом и биоразлагаемый полимер представляет собой смесь (A) сополимера гликолевой кислоты и оксикарбоновой кислоты общей формулы II



в которой R обозначает алкильную группу с 2-8 атомами углерода, и (B) полимолочной кислоты.

22) Способ по приведенному выше п. 19, в котором биоразлагаемый полимер является сополимером молочной кислоты и гликолевой кислоты.

23) Способ по приведенному выше п. 19, который включает растворение биоразлагаемого полимера и в основном водонерастворимого физиологически активного пептида в растворителе, который является в основном несмешиваемым с водой, и добавление полученного раствора к водной среде с целью получения O/W эмульсии (эмulsionи типа "масло в воде").

24) Способ получения препарата замедленного высвобождения, который включает растворение биоразлагаемого полимера, включающего смесь (A) сополимера гликолевой кислоты и оксикарбоновой кислоты общей формулы II



в которой R представляет алкильную группу с 2-8 атомами углерода, и (B) полимолочной кислоты и в основном водонерастворимого физиологически активного пептида или его соли в растворителе, который в основном является не смешиваемым с водой, и затем удаление названного растворителя, и

25) Способ по приведенному выше п. 24, который дополнительно включает после этого растворение биоразлагаемого полимера и в основном водонерастворимого

физиологически активного пептида или его соли в растворителе, который является в основном не смешиваемым с водой, и затем добавление образовавшегося раствора к водной среде с целью получения O/W эмульсии.

Обозначения, использованные в данном описании, имеют следующие значения:

NAcD2NaI -

N-Ацетил-D-3-(2-нафтил)аланил

D4ClPhe - D-3-(4-Хлорфенил)аланил

D3Pal - D-3-(3-Пиридинил)аланил

NMeTyr - N-Метилтирозил

DLys(Nic) -

D-(Ипсилон-N-никотиноил)лизил

Lys(Nisp) - (Ипсилон-N-изопропил)лизил

DLys(AzaglyNic) -

D-[1-Аза-(N-никотиноил)глицил]лизил

DLys(AzaglyFur) -

D-[1-Аза-(N-2-фуроил)глицил]лизил

Для любых других аминокислот используются обозначения, рекомендованные IUPAC-IUB Комитетом по Биохимической номенклатуре (European Journal of Biochemistry 138, 9-37, 1984) или обозначения, общепринятые в соответствующей технике. В случае существования оптических изомеров для любого соединения, если не оговорено особо, имеется в виду L-изомер.

В настоящем изобретении пептид (I) проявляет LH-RH антагонистическую активность и является эффективным при лечении гормонально-зависимых заболеваний, таких как рак предстательной железы, гипертрофия предстательной железы, эндометриоз, миома матки, фиброма матки, преждевременное половое созревание, рак молочной железы, и т.д. или в качестве противозачаточного средства.

Отнесенная к формуле [I], ацилгруппа X предпочтительно является ацилгруппой карбоновой кислоты. Примеры ацилгрупп включают C_{2-7} -алканоил, C_{7-15} циклоалканоил (например, циклогексаноил),

40 C_{1-6} алкилкарбамоил (например, этилкарбамоил), 5- или 6-членный гетероциклический карбонил (например, пиперидинокарбонил) и карбомоилгруппа, которая может необязательно быть замещенной. Ацилгруппа предпочтительно является C_{2-7} алканоилгруппой (например, ацетил, пропионил, бутирил, изобутирил, пентаноил, гексаноил или гептаноил), которая может необязательно быть замещенной, наиболее предпочтительно

45 C_{2-4} алканоилгруппой (например, ацетил, пропионил, бутирил, изобутирил), которая может необязательно быть замещенной. Заместителями являются, например,

50 C_{1-6} алкиламиногруппа (например, метиламино, этиламино, диэтиламино, пропиламино), C_{1-3} алканоиламиногруппа (например, формиламино, ацетиламино, пропиониламино), C_{7-15} циклоалканоил аминогруппа (например, циклогексеноиламино),

55 C_{7-15} арилкарбонил-аминогруппа (например, бензоиламино), 5- или 6-членная гетероциклическая карбоксамидогруппа (например, тетрагидрофурилкарбоксамидо, пиридилилкарбоксамидо, фурилкарбоксамидо), гидроксилгруппа, карбомоилгруппа, формилгруппа,

60 C_{1-3} алканоилгруппа (например, метиламино, этиламино, диэтиламино, пропиламино), C_{7-15} циклоалканоил аминогруппа (например, циклогексеноиламино),

65 C_{7-15} арилкарбонил-аминогруппа (например, бензоиламино), 5- или 6-членная гетероциклическая карбоксамидогруппа (например, тетрагидрофурилкарбоксамидо, пиридилилкарбоксамидо, фурилкарбоксамидо), гидроксилгруппа, карбомоилгруппа, формилгруппа,

R U 2128055 C1

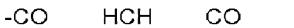
R U 2 1 2 8 0 5 5 C 1

ткарбоксилгруппа, 5- или 6-членная гетероциклическая группа (например, пиридил, морфолино). Заместителями предпочтительно являются 5- или 6-членная гетероциклическая карбоксамидогруппа (например, тетрагидрофурилкарбоксамило, пиридилкарбоксамило, фурилкарбоксамило).

X предпочтительно является С₂₋₇ алканоилгруппой, которая может быть предпочтительно замещенной 5- или 6-членной гетероциклической карбоксамидогруппой.

Более предпочтительно X представляет С₂₋₄ алканоилгруппу, которая может необязательно быть замещенной тетрагидрофурил карбоксамидогруппой.

Конкретными примерами X является ацетил,



(тетрагидрофурилкарбоксамидацетил) и тому подобное.

Ароматическая циклическая группа R₁, R₂ или R₄ может быть, например, ароматической циклической группой с 6-12 углеродными атомами. Примерами ароматической циклической группы являются фенил, нафтил, антрил и тому подобные. Предпочтительными являются ароматические циклические группы с 6-10 углеродными атомами, такие как фенил и нафтил. Эти ароматические циклические группы могут иметь каждая от 1 до 5, предпочтительно от 1 до 3, подходящих заместителей на кольце в соответствующих положениях. Такие заместители включают гидрокси, галоген, аминотриазолизамещенный амино, алcoxи и тому подобные. Предпочтительными являются гидрокси, галоген и аминотриазолизамещенный амино.

Упомянутые выше галогены включают фтор, хлор, бром и иод.

Аминотриазолил составляющая названного аминотриазолизамещенного амино включает, среди других, 3-амино-1Н-1,2,4-триазол-5-ил, 5-амино-1Н-1,3,4-триазол-2-ил, 5-амино-1Н-1,2,4-триазол-3-ил, 3-амино-2Н-1,2,4-триазол-5-ил, 4-амино-1Н-1,2,3-триазол-5-ил, 4-амино-2Н-1,2,3-триазол-5-ил и тому подобные. Алcoxигруппа предпочтительно представляет собой алcoxигруппу с 1-6 атомами углерода (например, метокси, этиокси, пропокси, изопропокси, бутокси, изобутокси, и т.д.). Более предпочтительно, R₁ является нафтилом или галофенилом. Более предпочтительно, R₂ представляет собой галофенил. Более предпочтительно, R₄ представляет собой гидроксифенил или аминотриазолиламинозамещенный фенил.

D-амино кислотный остаток R₃ предпочтительно является α-D-аминокислотным остатком с 3-12 углеродными атомами. Примерами аминокислоты являются лейцин, изолейцин, норлейцин, валин, норвалин, 2-аминомасляная кислота, фенилаланин, серин, треонин, метионин, аланин, триптофан и аминоизомасляная кислота. Эти аминокислоты могут иметь подходящие защитные группы (используемые обычно в

технике защитные группы, такие как т-бутил, т-бутокси, т-бутоксикарбонил, и т.д.).

Гетероциклическая группа R'₃ включает 5- или 6-членные гетероциклические группы, каждую содержащую от 1 до 2 атомов азота или серы в качестве гетероатомов, которые могут необязательно быть конденсированными до бензольного кольца. В частности, могут быть упомянуты тиенил, пирролил, тиазолил, изотиазолил, имидазолил, пиразолил, пиридинил, 3-пиридинил, 3-бензо [b] тиенил, 3-бензо [b]-3-тиенил, индолил, 2-индолил, изоиндолил, 1Н-индазолил, бензоимидазолил, бензотиазолил, хинопил, изохинопил и т.д. Особенно предпочтительными разновидностями R'₃ являются пиридинил или 3-бензо[b] тиенил. Ароматическая циклическая группа R₅ может быть такой же, как ароматическая циклическая группа R₁, R₂ или R₄. Ароматическая циклическая группа может иметь от 1 до 5, предпочтительно от 1 до 3, подходящих заместителей в соответствующих положениях на кольце. Заместители могут также быть такими, как заместители, упомянутые для R₁, R₂ или R₄. В частности, предпочтительным заместителем является аминотриазолил-замещенный амино.

Гликозил группа для О-гликозил R₅ предпочтительно является гексозой или ее производным. Гексоза включает D-глюкозу, D-фруктозу, D-маннозу, D-галактозу, L-галактозу и тому подобные. В качестве названного производного могут быть упомянуты деокси сахара (L- и D-фруктоза, D-хиновоза, L-рамноза, и т.д.) и амино сахара (D-глюказамин, D-галактозамин, и т.д.). Наиболее предпочтительными являются дезокси сахара (L- и D-фруктоза, D-хиновоза, L-рамноза, и т.д.). Еще более желательна L-рамноза.

Заместитель на аминогруппе, которая может необязательно быть замещенной, R'₅ включает, среди других, ацил, карбамоил, карбазоил, который может быть замещенный ацилом или амидино, который может быть моно- или ди-замещенный алкилом.

Вышеупомянутый ацил и ацил для вышеупомянутого карбазоила, который может быть замещенный ацилом, включают никотиноил, фуроил, теноил и тому подобные.

Упомянутая выше алкил составляющая моно- или диаламидино включает линейные или разветвленные алкилгруппы, содержащие от 1 до 4 атомов углерода, включающие т.о. метил, этил, пропил, изопропил, бутил, изобутил, втор-бутил и трет-бутил и тому подобные. Предпочтительный алкил составляющей является метил или этил.

Заместитель для аминогруппы, которая может необязательно быть замещенной, R'₆ включает алкил и амидино, который может необязательно быть моно- или ди-замещенный алкилом.

Вышеупомянутый алкил и алкил моно- или диалкиламидино, упомянуть выше, включает те алкилгруппы, которые упомянуты для R'5.

D-аминокислотный остаток R₇ является предпочтительно D-аминокислотным остатком с 3-9 атомами углерода, такими как D-аланил, D-лейцил, D-валил, D-изолейцил,

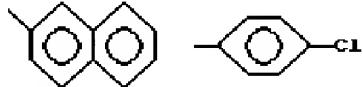
R U 2 1 2 8 0 5 5 C 1

D-фенилаланил и тому подобные. Более предпочтительными являются D-аминокислотные остатки с 3-6 углеродными атомами, такие как D-аланил, D-валил и тому подобные.

Наиболее предпочтительной разновидностью R₇ является D-аланил.

Низшая алкильная группа может быть алкильной группой, определенной для R'₅. Наиболее предпочтительным видом Q является метил.

Конкретными примерами R₁ являются



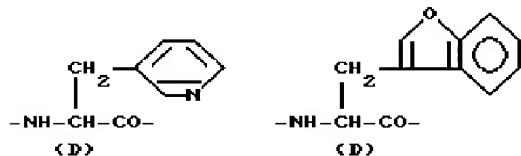
и тому подобные

Конкретными примерами R₂ являются



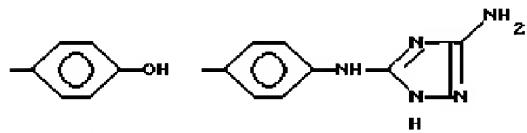
и тому подобные

Конкретными примерами R₃ являются



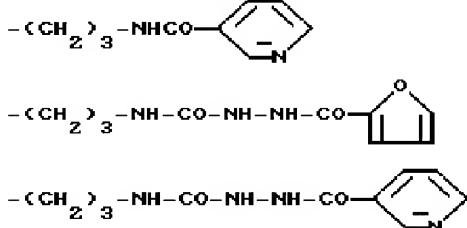
и тому подобные

Конкретными примерами R₄ являются



и тому подобные

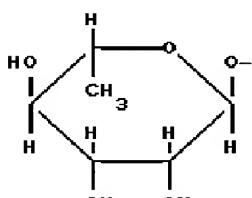
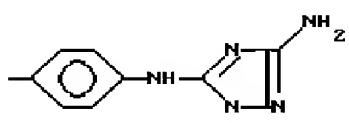
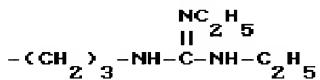
Конкретными примерами R₅ являются



-(CH₂)₃-NH₂

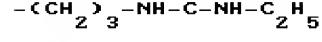
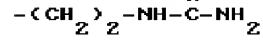
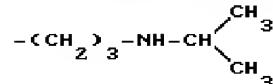
-(CH₂)₂-NH-CO-NH₂

-(CH₂)₃-NH-CO-NH₂



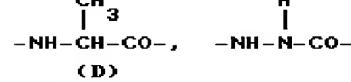
и тому подобные.

Конкретными примерами R₆ являются



и тому подобные

Конкретными примерами R₇ являются



и тому подобные

Когда пептид [I] содержит один или более асимметрических углеродных атомов, существует два или более стереоизомеров. Любой из таких стереoisомеров равно, как и их смесь, находятся в рамках объема данного изобретения и приложенных пунктов.

Пептид общей формулы [I] получают по существу известными способами. Типичные конкретные способы описаны в патенте США N 5110904.

Пептид [I] может использоваться в форме соли, предпочтительно фармакологически приемлемой соли. В случае, когда пептид имеет основные группы, такие как амино, соль включает соли с неорганическими кислотами (например, соляной кислотой, серной кислотой, азотной кислотой, и тому подобными) или органическими кислотами (например, угольной кислотой, водородной угольной кислотой, янтарной кислотой, уксусной кислотой, пропионовой кислотой, трифторуксусной кислотой и т.д.). Когда пептид содержит кислотные группы, такие как карбоксил, соли с неорганическими основаниями (например, щелочные металлы, такие как натрий, калий, и т.д. и щелочноземельные металлы, такие как натрий, калий, и т.д., и щелочноземельные металлы, такие как кальций, магний и т.д.) или органическими основаниями (например, органические амины, такие как триэтиламин и основные аминокислоты, такие как аргинин). Пептид [I] может быть в форме комплексного соединения металла (например, комплекс меди, комплекс цинка, и т.д.). Предпочтительными солями пептида [I] являются соли с органическими кислотами (например угольной кислотой, hydrocarbonic (водородной угольной) кислотой, янтарной кислотой, уксусной кислотой, пропионовой кислотой, трифторуксусной кислотой, и т.д.). Наиболее предпочтительным является ацетат.

Конкретными предпочтительными видами пептида [I] или соли являются следующие:

(1) NAcD2Nal-D4CIPhe-D3Pal-Ser-NMeTyr-DLys(Noc)-Leu-Lys(Nisp)-Pro-DAlaNH₂ или его ацетат.

(2)

NAcD2Nal-D4CIPhe-D3Pal-Ser-NMeTyr-DLys(AzaglyNic)-Leu-Lys(Nisp)-Pro-DAlaNH₂ или его ацетат.

(3)

NAcD2Nal-D4CIPhe-D3Pal-Ser-NMeTyr-DLys(AzaglyFur)-Leu-Lys(Nisp)-Pro-DAlaNH₂ или его ацетат.

RU 2128055 C1

(4)



CONHCH₂

COD2Nal-D4CIPhe-D3Pal-Ser-NMeTyr-DLyS(Noc)-Leu-Lys(Nisp)-Pro-DAlaNH₂
или его ацетат.

(5) NAcD2Nal-D4CIPhe-D3Pal-Ser-Tyg-DhArg(Et₂)-Leu-hArg(Et₂)-Pro-DAlaNH₂ или
его ацетат.

В препарате замедленного высвобождения, соотношение пептида [I] может варьироваться, в частности, в зависимости от типа пептида, ожидаемого фармакологического эффекта и времени воздействия, и может находиться в интервале приблизительно от 0,01% до 50% (вес/вес) относительно биоразлагаемого полимера. Предпочтительный интервал составляет приблизительно от 0,1 до 40% (вес/вес) и наиболее предпочтительный интервал составляет приблизительно от 1 до 30% (вес/вес).

Приводим описание биоразлагаемого полимера, имеющего концевую карбоксильную группу.

Биоразлагаемый полимер, приблизительно от 1 до 3 г растворили в смеси ацетона (25 мл) и метанола (5 мл) и, используя фенолфталеин в качестве индикатора, быстро оттитровали карбоксильные группы в растворе с помощью 0,05 н спиртового раствора гидроокси калия при перемешивании в условиях комнатной температуры (20°C). Затем рассчитали среднечисловой молекулярный вес на основании определения концевых групп, используя следующее уравнение.

Определенный по концевым группам среднечисловой молекулярный вес = 20000 • A/B

где А соответствует массе биоразлагаемого полимера (г)

В представляет количество 0,05 н спиртового раствора гидроокси калия (мл) пошедшее на титрование.

Результат приведенного выше расчета дает среднечисловой молекулярный вес, определенный по концевым группам.

В качестве иллюстрации, если взять полимер, имеющий концевую карбоксильную группу, синтезированный, например, из одной или более α-оксикислот по способу некatalитической дегидративной поликонденсации, то среднечисловой молекулярный вес, определенный по концевым группам, приблизительно равен среднечисловому молекулярному весу, найденному методом GPC. В противоположность этому, в случае полимера, практически не содержащего свободных концевых карбоксильных групп, полученного синтезом из циклического димера по способу полимеризационного раскрытия кольца и при использовании катализаторов, среднечисловой молекулярный вес, определенный по концевым группам, намного выше, чем среднечисловой молекулярный вес, определенный методом GPC. На основании этого различия, полимер, имеющий концевую карбоксильную группу, можно четко отличить от полимера, не имеющего концевую карбоксильную группу. Таким образом, используемый здесь термин биоразлагаемый

полимер, имеющий концевую карбоксильную группу, означает биоразлагаемый полимер, показывающий существенное соответствие между среднечисловым молекулярным весом, определенным по методу GPC, и среднечисловым молекулярным весом, определенным по концевым группам.

Тогда как среднечисловой молекулярный вес, определенный по концевым группам, является абсолютной величиной, среднечисловой молекулярный вес, определенный методом GPC, является относительной величиной, которая изменяется в зависимости от аналитических и технологических условий (таких как тип подвижной фазы и колонки, стандартное вещество, выбранная ширина слоя, выбранная нулевая линия, и т.д.). Поэтому два значения не могут быть численно скоррелированы на основании общих закономерностей. Однако термин "существенное соответствие" между среднечисловым молекулярным весом, определенным GPC, и среднечисловым молекулярным весом определенным по концевым группам, означает, что среднечисловой молекулярный вес, найденный по концевым группам, приблизительно в 0,4-2 раза, более предпочтительно приблизительно в 0,8-1,5 раза, наиболее желательно в 0,8-1,5 раза больше, чем среднечисловой молекулярный вес определенный методом.

Термин "намного выше" в том смысле, как он использован вами, означает, что среднечисловой молекулярный вес, определенный по концевым группам, приблизительно в два раза или более выше, чем среднечисловой молекулярный вес, определенный GPC.

Предпочтительным полимером в целях настоящего изобретения является полимер, показывающий существенное соответствие между среднечисловым молекулярным весом, определенным GPC, и среднечисловым молекулярным весом, определенным по концевым группам.

В качестве конкретных примеров биоразлагаемого полимера, имеющего концевую карбоксильную группу, могут быть упомянуты полимеры и сополимеры, равно как их смеси, которые синтезированы из одного или более видов α-окси кислот (например, гликолевая кислота, молочная кислота, оксимасляная кислота, и т.д.), оксикарбоновых кислот (например, лимонная кислота), и т.д. по реакции некatalитической дегидративной поликонденсации, поли-α-цианоакриловых сложных эфиров, полiamино кислот (например, поли-γ-бензил-L-глутаминовая кислота и т.д.), сополимеров малеинового ангидрида (например, сополимер стирола и малеиновой кислоты и т.д.) и тому подобных.

По способу полимеризация может быть статистической, блочной или привитой. В случае, когда любая из вышеупомянутых α-кислот, оксидикарбоновых кислот и окситрикарбоновых кислот имеют оптически активный центр в молекуле, могут использоваться любые D-, L- и DL-формы. Биоразлагаемый полимер, имеющий концевую карбоксильную группу, предпочтительно является биоразлагаемым

R U 2 1 2 8 0 5 5 C 1

полимером, включающим смесь (A) сополимера гликолевой кислоты и оксикарбоновой кислоты общей формулы II.

**R
I
НОСНСООН**

в которой R представляет алкилгруппу с 2-3 атомами углерода, и (B) и полимолочной кислоты, или сополимера молочной кислоты - гликолевой кислоты.

По отношению к общей формуле [II] линейные или разветвленные алкилгруппы с 2-3 атомами углерода, представленные R, включают, между прочих, этил, пропил, изопропил, бутил, изобутил, втор-бутил, трет-бутил, пентил, изопентил, неопентил, трет-пентил, 1-этилпропил, гексил, изогексил, 1,1-диметилбутил, 2,2-диметилбутил, 3,3-диметилбутил и 2-этилбутил.

Среди них предпочтительными являются линейные или разветвленные алкилы с 2-5 атомами углерода. Особенно, этил, пропил, изопропил, бутил и изобутил предпочтительны.

Оксикарбоновая кислота общей формулы II включает, среди прочих, 2-оксимасляную кислоту, 2-оксивалериановую кислоту, 2-окси-3-метилмасляную кислоту, 2-оксиакапроновую кислоту, 2-оксизокапроновую кислоту и 2-оксиакапроновую кислоту. Предпочтительными являются 2-оксимасляная кислота, 2-оксивалериановая кислота, 2-окси-3-метилмасляная кислота и 2-оксиакапроновая кислота.

Наиболее предпочтительно оксикарбоновой кислотой общей формулы [II] являются 2-оксимасляная кислота. Хотя эти оксикарбоновые кислоты могут быть в форме D-, L- и DL-соединений, D-L-соотношение (мол.%) предпочтительно находится в интервале приблизительно от 75/25 до 25/75. Более предпочтительным вариантом воплощения изобретения является оксикарбоновая кислота с D-L-соотношением (мол.%) в интервале приблизительно 60/40 до 40/60. Наиболее предпочтительной является оксикарбоновая кислота с D-L-соотношением (мол.%) в интервале приблизительно от 55/45 до 45/55.

По отношению к сополимеру гликолевой кислоты и названной оксикарбоновой кислоты общей формулы [II] (далее здесь упоминается как сополимер гликолевой кислоты) способ сополимеризации может быть статистическим, блочным или привитым. Предпочтительными являются статические сополимеры.

Оксикарбоновые кислоты общей формулы [II] могут быть использованы отдельно или в комбинации.

Предпочтительные соотношения гликолевой кислоты и оксикарбоновой кислоты [II] в названном сополимере гликолевой кислоты (A) составляют приблизительно от 10 до 75 мол.% и оставшиеся до 100% - оксикарбоновой кислоты. Более желательно, чтобы сополимер состоял приблизительно на 20-75 мол.% из гликолевой кислоты и в остальном из оксикарбоновой кислоты. Наиболее желательно, чтобы сополимер состоял приблизительно на 40-70% из гликолевой

кислоты и в остальном из оксикарбоновой кислоты. Средневесовой молекулярный вес названного сополимера гликолевой кислоты может изменяться приблизительно от 2000 до 50000. Предпочтительный интервал составляет приблизительно от 3000 до 40000. Наиболее предпочтительный интервал составляет приблизительно от 8000 до 30000. Степень дисперсности (средневесовой молекулярный вес/среднечисловой молекулярный вес) предпочтительно находится в интервале приблизительно от 1,2 до 4,0. Особенno предпочтительными являются сополимеры со степенью дисперсности в интервале приблизительно от 1,5 до 3,5.

Сополимер гликолевой кислоты (A) может быть синтезирован по известной методике, например, способом, описанным в выложенной заявке Японии N 28521/1986.

Полимолочная кислота для применения в настоящем изобретении может быть L- или D-соединением и любой их смесью. Предпочтительными являются смеси с D-L-соотношением (мол. %) в интервале приблизительно от 75/25 до 20/80. Наиболее предпочтительным является

D-L-соотношение (мол.%) полимолочной кислоты приблизительно от 60/40 до 25/75. Наилучшим соотношением D/L (мол.%) полимолочной кислоты является приблизительно от 55/45 до 25/75. Средневесовой молекулярный вес полимолочной кислоты находится предпочтительно в интервале от 1500 до 30000, наиболее предпочтительно от 2000 до 20000 и еще более желательно приблизительно от 3000 до 15000. Степень дисперсности полимолочной кислоты находится приблизительно от 1,5 до 3,5.

Полимолочная кислота может быть синтезирована двумя известными альтернативными способами, а именно способом, включающим полимеризацию с раскрытием кольца лактида, который является димером молочной кислоты, и способом, включающим дегидративную поликонденсацию молочной кислоты. Для получения полимолочной кислоты сравнительно низкого молекулярного веса для применения в настоящем изобретении предпочтительным является способ, включающий прямую дегидративную поликонденсацию молочной кислоты. Этот способ описан, например, в выложенной заявке Японии 28521/1986.

В фармакологической основе, применяемой в настоящем изобретении, сополимер гликолевой кислоты (A) и полимолочной кислоты (B) используется в (A)/(B) соотношении (по весу) приблизительно от 10/90 до 90/10. Предпочтительно соотношение смеси приблизительно 20/80 - 80/20. Наиболее желательное соотношение смеси составляет приблизительно от 30/70 до 70/30. Если доля либо (A), либо (B) слишком велика, конечный препарат будет показывать паттерн высвобождения лекарственного средства, незначительно отличающийся от паттерна, полученного при использовании отдельно либо (A), либо (B), что означает, что линейный паттерн высвобождения на последней стадии высвобождения, который достичим со смешанным основанием, не может быть получен. Степень и скорости

RU 2128055C1

выделения сополимера гликолевой кислоты и полимолочной кислоты значительно изменяются с их молекулярными весами и составом, но вообще говоря, поскольку скорости разложения и высвобождения сополимера гликолевой кислоты сравнительно высоки, период высвобождения может быть увеличен повышением молекулярного веса полимолочной кислоты или снижением соотношения смеси (A)/(B). Напротив, продолжительность высвобождения может быть сокращена снижением молекулярного веса полимолочной кислоты или увеличением (A)/(B) соотношения смеси. Кроме того, продолжительность высвобождения может регулироваться изменением вида или относительного количества оксикарбоновой кислоты общей формулы II.

Когда в качестве биоразлагаемого полимера используется сополимер молочной кислоты и гликолевой кислоты, его полимеризационное отношение (молочная кислота/гликолевая кислота) (мол.%) предпочтительно приблизительно от 100/0 до 40/60. Наиболее желательно соотношение приблизительно от 90/10 до 50/50.

Средневесовой молекулярный вес названного сополимера составляет предпочтительно от 5000 до 25000. Наиболее желательный интервал приблизительно от 7000 до 20000.

Степень дисперсности (средневесовой молекулярный вес)/среднечисловой молекулярный вес) названного сополимера составляет предпочтительно от приблизительно 1,2 до 4,0. Более желательный интервал приблизительно от 1,5 до 3,5.

Вышеупомянутый сополимер молочной кислоты и гликолевой кислоты может быть синтезирован по известной методике, например, по способу, описанному в выложененной заявке Японии 28521/86. Разложение и скорость исчезновения сополимера молочной кислоты и гликолевой кислоты значительно изменяется с составом и молекулярным весом, но вообще говоря, чем меньше доля гликолевой кислоты, тем ниже разложение и скорость исчезновения. Поэтому продолжительность высвобождения лекарственного средства может быть увеличена снижением доли гликолевой кислоты или увеличением молекулярного веса.

Напротив, продолжительность высвобождения может быть уменьшена увеличением доли гликолевой кислоты или снижением молекулярного веса. Для получения препарата с длительным (например, 1-4 месяца) периодом замедленного высвобождения, предпочтительно использовать сополимер молочной кислоты и гликолевой кислоты с полимеризационным отношением, находящимся в вышеупомянутом интервале, и средневесовой молекулярный вес в упомянутом выше интервале. С сополимером молочной кислоты и гликолевой кислоты, имеющим более высокую скорость разложения, чем наблюдается для вышеупомянутых интервалов полимеризационного отношения и средневесового молекулярного веса, трудно контролировать начальный импульс.

Напротив, для сополимера молочной кислоты и гликолевой кислоты, показывающего более низкую скорость разложения, чем скорость для названных интервалов полимеризационного отношения и средневесовой молекулярный вес, возникает тенденция образования периодов, во время которых лекарственное средство не высвобождается в эффективном количестве.

В настоящем описании средневесовой молекулярный вес и степень дисперсности означают молекулярный вес в отношении полистирола, определенный путем гельпроникающей хроматографии (GPC), использованием 9 полистиролов со средневесовыми молекулярными весами 120000, 52000, 22000, 9200, 5050, 2950, 1050, 580 и 162 в качестве стандартов и степень дисперсности, рассчитанную использованием полученного молекулярного веса, соответственно. Вышеприведенное определение проводили, используя GPC Колонку KF804 L•2 (Showa Denko), PI Монитор L-3300 (Hitachi) и хлороформ в качестве подвижной фазы.

Препарат замедленного высвобождения настоящего изобретения получают растворением пептида [I] и биоразлагаемого полимера, имеющего концевую карбоксильную группу в растворителе, который является в основном несмешиваемым с водой, и затем удаляя названный растворитель.

Растворитель, который в основном несмешиваем с водой, представляет собой растворитель, который не только по существу не смешивается с водой и способен к растворению биоразлагаемого полимера, но растворитель, который делает образовавшийся полимерный раствор способным к растворению пептида [I]. Предпочтительно, он является растворителем с растворимостью в воде не более 3% (вес/вес) при атмосферной температуре (20 °C). Температура кипения такого растворителя предпочтительно не выше 120 °C. Таким образом, растворитель включает галогенизированные углеводороды (например, дихлорметан, хлороформ, хлорэтан, трихлорэтан, четыреххлористый углерод и так далее), простые алкиловые эфиры с 3 или более углеродными атомами (например, изопропиловый эфир и т.д.), алкил жирной кислоты (из 4 углеродных атомов или больше), сложные эфиры (например, бутил ацетат и так далее), ароматические углеводороды (например, бензол, толуол, ксиол, и т.д.) и тому подобное. Эти растворители могут быть использованы в подходящей комбинации 2 или более разновидностей. Более желательными растворителями являются галогенизированные углеводороды (например, дихлорметан, хлороформ, хлорэтан, трихлорэтан, четыреххлористый углерод, и т.д.). Наиболее желателен дихлорметан.

Удаление растворителя может быть выполнено по известным методикам. Например, способом, включающим упаривание растворителя при атмосферном давлении или при постепенном понижении давления с постоянным перемешиванием с помощью пропеллерной мешалки или магнитной мешалки, или способом,

R U 2 1 2 8 0 5 5 C 1

включающим упаривание растворителя при контролируемом понижении давления в роторном испарителе.

Согласно способу изобретения для получения препарата замедленного высвобождения, растворение пептида [I] и биоразлагаемого полимера с концевой карбоксильной группой означает достижение таких условий, при которых в образовавшемся растворе отсутствует визуально наблюдаемый осадок нерастворившегося пептида при обычной температуре (20°C). В этой тройной системе, состоящей из пептида [I], биоразлагаемого полимера и растворителя, количество пептида, которое может быть растворено, зависит от числа концевых карбоксильных групп на единицу веса биоразлагаемого полимера. В случае, когда пептид и концевая карбоксильная группа взаимодействуют в соотношении 1:1, теоретически может быть растворено такое же молярное количество пептида, как и количество концевой карбоксильной группы. Поэтому обобщение затруднено в связи с тем, что необходимо сочетать растворитель и молекулярный вес пептида и биоразлагаемого полимера. Однако, при получении препарата замедленного высвобождения пептид может быть растворен в интервале приблизительно от 0,1 до 100% (вес/вес), предпочтительно приблизительно от 1 до 70% (вес/вес), наиболее желательно приблизительно от 2 до 50% (вес/вес), относительно биоразлагаемого полимера, который растворяется в растворителе.

Далее настоящее изобретение относится к способу получения препарата замедленного высвобождения, который включает растворение биоразлагаемого полимера, включающего смесь (A) сополимера гликолевой кислоты и оксикарбоновой кислоты общей формулы



в которой R обозначает алкилгруппу из 2-8 углеродных атомов,

и (B) полимолочной кислоты и в значительной степени водонерастворимого физиологически активного пептида или его соли в растворителе, который в основном не смешивается с водой, и затем удаление названного растворителя.

В значительной степени водонерастворимый физиологически активный пептид не является строго определенным и включает естественно-природные, синтетические и полусинтетические пептиды. Предпочтительны физиологически активные пептиды, содержащие одну или более ароматических групп (например, группы, являющиеся производными бензола, нафталина, фенантрена, антрацена, пиридина, пирола, индола, и т.д.) в боковых цепях. Более предпочтительными физиологически активными пептидами являются пептиды, имеющие 2 или более ароматических групп в боковых цепях. Особенно предпочтительны физиологически активные пептиды, имеющие 3 или более ароматических групп в боковых цепях. Эти ароматические группы могут быть дополнительно замещенные.

Существенно водонерастворимым физиологически активным пептидом для применения в настоящем изобретении является предпочтительно пептид, обладающий растворимостью не более 1% в воде, состоящий из двух или более аминокислот и имеющий молекулярный вес приблизительно от 200 до 30000. Область более предпочтительного молекулярного веса составляет приблизительно от 300 до 20000 и еще более желательно приблизительно от 500 до 10000.

В качестве примеров названных физиологически активных пептидов могут быть упомянуты антагонисты высвобождающего гормона

15 лютенизирующего гормона (LH-RH) (сравни патент США N 4.086.219, N 4.124.577, N 4.253.997 и N 4.317.815 и т.д.), инсулин, соматостатин, производные соматостатина (сравни патент США N 4.087.390, N 4.093.574, N 4.100.117, N 4.253.998 и т.д.), гормон роста пролактин, адренокортикотропный гормон (АСТН), меланоцит стимулирующий гормон (MSH), соли и производные гормона, высвобождающего тироидный гормон (сравни JP Kokai S-50-121273 и S-52-116465), тиреотропный гормон (TSH), лютенизирующий гормон (LH), фолликулостимулирующий гормон (FSH), вазопрессин, производные вазопрессина, окситоцин, кальцитонин, настрин, секретин, панкреазимин, холецистокinin, ангиотензин, человеческий плацентарный лактоген, человеческий хореонический гонадотропин (HCG), энкефалин, энкефалин, производные энкефалина (ср. патент США N 4.277.394, EP-A N 31.567), эндорфин, киотфин, туфтеин, тимопойэтин, тимозин, тимостимулин, тимический гуморальный фактор, ТГФ (THF), сывороточный тимический фактор, СТФ (FTS), и его производные (ср. патент США N 4.229.438), другие тимические факторы, опухолевый некрозный фактор (TNF), колониестимулирующий фактор (CSF), метилин, динорфин, бомбезин, нейротензин, церулейн, брадикинин, предсердный (натруретический) фактор, нервический фактор роста, фактор клеточного роста, нейротрофический фактор, пептиды, имеющие эндотелин антагонистическую активность (ср. EP-A N 436189, N 457195 и N 496452, JP Kokai H-3-94692 и 03-130299) и фрагменты производных этих физиологически активных пептидов.

50 Конкретными примерами физиологически активного пептида являются физиологически активные пептиды и соли, которые являются антагонистами высвобождающего гормона (LH-RH) и полезны для лечения заболеваний, связанных с гормональной зависимостью, таких как рак предстательной железы, гипертрофия предстательной железы, эндометриоз, миома матки, преждевременное половое созревание, рак молочной железы и т.д., и в качестве контрацептивов.

60 Физиологически активный пептид для использования в настоящем изобретении может быть в форме соли, желательно фармакологически приемлемой соли. Когда названный пептид имеет основную группу, такую как амино, вышеупомянутая соль может быть, к примеру, солью с неорганической кислотой (например, хлористоводородной

RU 2 1 2 8 0 5 5 C 1

кислотой, серной кислотой, азотной кислотой и т.д.) или органической кислотой (например, угольной кислотой, водородной угольной кислотой, янтарной кислотой, уксусной кислотой, пропионовой кислотой, трифтормуксусной кислотой и т.д.). Когда пептид имеет кислотную группу, такую как карбоксил, соль может, например, быть солью с неорганическим основанием (например, щелочные металлы, такие как кальций, магний и т.д.) или органическим основанием (например, органические амины, такие как триэтиламин и т.д., и основные аминокислоты, такие как аргинин и т.д.). Кроме того, пептид может быть в форме комплексного соединения металла (например, комплекса меди, комплекса цинка, и т.д.).

Конкретные примеры физиологически активного пептида или его соли могут быть взяты в Патенте США N 5110904, Journal of Medicinal Chemistry 34, 2395-2402, 1991, Recent results in Cancer Research 124, 113-136, 1992, и другой литературе).

Кроме того, среди других могут также быть упомянуты физиологически активные пептиды общей формулы [I] и их соли.

Кроме того, даже когда физиологически активный пептид является водорастворимым, он может быть превращен в производное соединение, которое будет растворимым, или превращен в нерастворимую соль с водонерастворимой кислотой (например, памоевая кислота, дубильная кислота, стеариновая кислота, пальмитиновая кислота и т.д.) и использован в способе изобретения.

Количество физиологически активного пептида в препаратах настоящего изобретения зависит от вида пептида, ожидаемого фармакологического эффекта и желаемой длительности действия и т.д. Однако, обычно, он используется в соотношении приблизительно от 0,001 до 50% (вес/вес), желательно приблизительно от 0,01 до 40% (вес/вес), наиболее желательно приблизительно от 0,1 до 30% (вес/вес), относительно биоразлагаемой полимерной основы.

Используемый в способе растворитель является таким, как описано выше.

Удаление растворителя может быть выполнено тем же способом, что описан выше.

Предпочтительным способом получения препарата замедленного высвобождения настоящего изобретения является способ микрокапсуляции, использующий технологию высушивания в воде или технологию фазового разделения, которые описаны ниже, или любой аналогичный этому способ.

Способ, описанный ниже, может выполняться с пептидом [I] или существенным образом водонерастворимым физиологически активным пептидом, который включает пептид [I].

Таким образом, пептид [I] добавляется к раствору биоорганического полимера в органическом растворителе в конечном весовом соотношении, упомянутом здесь ранее, для такого пептида, чтобы приготовить органический растворяющий раствор, содержащий пептид [I] и биоразлагаемый полимер. В связи с этим, концентрация биоразлагаемого полимера в органическом растворителе изменяется в соответствии с молекулярным весом биоразлагаемого

полимера и типа органического растворителя, но обычно выбирается из интервала приблизительно от 0,01 до 80% (вес/вес). Предпочтительная область составляет приблизительно от 0,1 до 70% (вес/вес). Еще более желательный интервал приблизительно от 1 до 60% (вес/вес).

Затем этот раствор органического растворителя, содержащий пептид [I] и биоразлагаемый полимер (масляная фаза), добавляют к водной фазе для получения O (масляная фаза) /W (водная фаза) эмульсии. Растворитель масляной фазы затем упаривают для получения микрокапсул. Объем водной фазы для этого способа обычно выбирают из интервала приблизительно от 1- до 10000-кратного объема масляной фазы. Предпочтительный интервал составляет приблизительно от 2 до 5000-кратного и еще более желательно приблизительно от 5 до 2000-кратного.

К упомянутой выше водной фазе может быть добавлен эмульгатор. Эмульгатором может обычно быть любое вещество, которое приводит к образованию стабильной O/W эмульсии. Т.о. здесь могут быть упомянуты анионные поверхностно-активные вещества (олеат натрия, стеарат натрия, лаурил сульфат натрия и т. д.), неионные поверхностно-активные вещества (полиоксиэтилен-сорбитан жирной кислоты сложный эфир /Твин 80 и Твин 60, Atlas Powder полиоксиэтилен-касторового масла производные /НСО-60 и НСО-50, Nikko Chemicals и т. д.), поливинилпирролидон, поливиниловый спирт, карбоксиметилцеллюзоза, лецитин, желатин, гиалуроновая кислота и т.д. Эти эмульгаторы могут быть использованы независимо или в комбинации. Концентрация может быть выбрана из интервала приблизительно от 0,001 до 20% (вес/вес). Предпочтительный интервал приблизительно от 0,01 до 10% (вес/вес) и еще более желательный интервал приблизительно от 0,05 до 5% (вес/вес).

Образовавшиеся микрокапсулы выделяют центрифугированием или фильтрацией и промывают несколькими порциями дистиллированной воды для удаления свободного пептида, наполнителя эмульгатора с поверхности, затем повторно диспергируют в дистиллированной воде или тому подобной и лиофилизируют. Затем, если необходимо, микрокапсулы нагревают при пониженном давлении для дальнейшего удаления оставшейся воды и органического растворителя из внутренней части микрокапсул. Предпочтительно, этот способ осуществляют нагреванием микрокапсул при температуре несколько (5°C или более) выше срединной температуры стеклования биоразлагаемого полимера, определенной с помощью дифференциального сканирующего калориметра при инкрементах температуры от 10 до $20^{\circ}\text{C}/\text{мин}$, обычно не более 1 недели или 2-3 дней, предпочтительно не более 24 часов, затем капсулы достигают температуры мишени.

При получении микрокапсул способом фазового разделения коацервирующий агент постепенно добавляют к раствору названного физиологически активного пептида и биоразлагаемого полимера в органическом растворителе с постоянным перемешиванием т. о., чтобы биоразлагаемый полимер мог

R U 2 1 2 8 0 5 5 C 1

быть отделен и превращен в твердый продукт. Этот коацервирующий агент добавляют в объеме приблизительно от 0,01 до 1000 кратного объема раствора в органическом растворителе пептида [I] и биоразлагаемого полимера.

Предпочтительный интервал приблизительно от 0,05 до 500-кратного и еще более желательно приблизительно от 0,1 до 200-кратного.

Коацервирующий агент должен быть соединением полимера типа минерального масла или растительного масла, которое смешивается с растворителем для биоразлагаемого полимера, но в то же время не растворяет полимер. В частности, могут быть упомянуты силиконовое масло, кунжутное масло, соевое масло, кукурузное масло, масло хлопкового семени, кокосовое масло, льняное масло, минеральное масло, н-гексен, н-гептан и т.д. Эти вещества могут быть использованы в комбинации.

Образовавшиеся микрокапсулы выделяют фильтрацией и промывают повторно гептаном или тому подобным с целью удаления коацервирующего агента. Затем свободный пептид и растворитель удаляют по способу высушивания в воде, как описано ранее.

В способе высушивания в воде или при коацервативном способе может быть добавлен ингибитор агрегации для предотвращения агрегации частиц. Ингибитор агрегации включает водорастворимые полисахариды, такие как маннитол, лактоза, глюкоза, крахмал (например, кукурузный крахмал) и т.д., глицин, протеины, такие как фибрин, коллаген и т.д., и неорганические соли, такие как хлорид натрия, кислый фосфат натрия и тому подобные.

В производстве микрокапсул способом распылительного высушивания названный органический растворяющий раствор пептида (I) и биоразлагаемого полимера впрыскивают в виде тумана через сопло и высушивающую камеру распылительного сушильного аппарата с целью выпаривания органического растворителя из мельчайших разделительных жидким каплей за короткое время для получения мелких капсул. Сопло может быть двухжидкостным, пневматическим, вращающимся дисковым и т.д. Целесообразно в способе распылять водный раствор названного ингибитора агрегации из другого сопла с целью предотвращения межкапсулной агрегации во временном согласовании с названным распылением органического растворяющего раствора пептида (I) и биоразлагаемого полимера.

При необходимости остаточная вода и органический растворитель удаляются нагреванием образовавшихся микрокапсул при пониженном давлении тем же способом, как описано здесь ранее.

Микрокапсулы могут вводиться как они есть либо перерабатываться в разнообразные фармацевтические препараты для введения путями, отличными от перорального (например, внутримышечно, подкожно и инъекциями внутрь органа или как имплантаты, как назальные, ректальные или маточные трансмукозальные отпускающие системы и т.д.) или для перорального введения (например, твердые препараты, такие как капсулы, например, жесткие капсулы, мягкие капсулы и т. д.) гранулы,

порошки и т.д. и жидкие препараты, такие как сиропы, эмульсии, супспензии и т.д.).

Для получения микрокапсул для инъекции, например, микрокапсулы могут быть составлены с дисперсантом (например, сурфактант, такой как Твин 80, НСО-60 и т.д., карбоксиметилцеллюлоза, полисахарид, такой как альгинат натрия и т.д.), консервантом (например, метилпарабен, пропилпарабен и т.д.), или вещества для получения изотонического раствора (например, хлористый натрий, маннитол, сорбитол, глюкоза, и т.д.) с целью приготовления водной супспензии или они могут быть диспергированы в растительном масле, таком как кунжутное масло, кукурузное масло или тому подобном, для получения масляной супспензии для применения в качестве инъекции с контролируемым высвобождением.

Размер частиц микрокапсул для таких инъекционных супспензий должен быть в интервале, необходимом для того, чтобы они могли образовывать дисперсию, и определяемом необходимым пропускным оборудованием и может быть, например, в интервале приблизительно от 0,1 до 500,0 мкм. Предпочтительная область размера частиц составляет приблизительно от 1 до 300 мкм и еще более желательно приблизительно от 2 до 200 мкм.

Для производства микрокапсул в виде стерильного продукта весь способ производства подвергается контролю на стерильность, микрокапсулы стерилизуют путем гамма-облучения или добавляют консервант, хотя эти методики не являются эксклюзивными.

Помимо вышеупомянутых микрокапсул, для получения препарата замедленного высвобождения настоящего изобретения, биоразлагаемая полимерная композиция, содержащая пептид в качестве активного ингредиента, хорошо диспергированный подходящим способом, может быть сплавлена или спрессована в сферическую, полоскообразную, игольчатую форму, в форму гранул или форму пленки.

Вышеупомянутая биоразлагаемая полимерная композиция может быть получена по методике, описанной в JP Publication S-50-17525. Конкретнее, пептидное лекарственное средство и полимер растворяют в растворителе и растворитель удаляют подходящим методом (например, распылительная сушка, мгновенное испарение, и т.д.) для получения заданной биоразлагаемой полимерной композиции.

Препарат замедленного высвобождения настоящего изобретения может вводиться в качестве внутримышечной, подкожной инъекции или инъекции внутрь органов, или в качестве имплантата, как трансмукозальная отпускающая система для назальной полости, прямой кишки или матки, или пероральный препарат, например, твердый препарат, такой как капсула (например, жесткая или мягкая), гранула, порошок, и т.д., или жидкий препарат, такой как сироп, эмульсия, супспензия и т.д..

Препарат замедленного высвобождения настоящего изобретения имеет низкую токсичность и может быть использован успешно для млекопитающих (например, человека, коровы, свиньи, собак, кошки,

R U 2 1 2 8 0 5 5 C 1

C1
5 12 8 0 5 5

RU

мышей, крысы и кролика).

Дозировка препарата замедленного высвобождения зависит от типа и процентного содержания активного лекарственного пептида, конечной дозированной формы, длительности высвобождения пептида, цели обработки (такая как гормонально-зависимые заболевания, например, рак предстательной железы, гипертрофия предстательной железы, эндометриоз, фиброма матки, преждевременное половое созревание, рак молочной железы и т. д., или для контрацепции) и конкретных видов животных, но в любом случае необходимо, чтобы эффективное количество пептида доставлялось непрерывно. Стандартная доза активного лекарственного пептида взятой в качестве приема системы доставки лекарства в течение одного месяца может быть выбрана преимущественно из интервала приблизительно от 0,01 до 100 мг/кг веса тела для взрослого человека. Предпочтительный интервал составляет приблизительно от 0,05 до 50 мг/кг веса тела. Наиболее желательный интервал составляет от 0,1 до 10 мг/кг веса тела.

Кроме того, стандартная доза препарата замедленного высвобождения на взрослого человека может быть выбрана из интервала приблизительно от 0,1 до 500 мг/кг веса тела. Предпочтительный интервал составляет приблизительно от 0,2 до 300 мг/кг веса тела. Частота введения может, например, изменяться в зависимости от одного раза в несколько недель, месяцев или одного раза в несколько месяцев, и может быть выбрана в соответствии с типом и процентным содержанием активного лекарственного пептида, конечной дозированной формы, предполагаемой продолжительности высвобождения пептида, заболевания, которым управляют, и поворгаемого лечению животного.

Следующие справочные и рабочие примеры приведены с целью более детального описания изобретения и не должны рассматриваться как ограничивающие рамки объема изобретения и приложенных пунктов. (Если не оговорено особо, % означает весовой %).

Используемые далее обозначения имеют следующие значения:

BOC - трет-бутиксикарбонил

FMOc - 9-фторенилметоксикарбонил

Cbz - бензилоксикарбонил

Справочный пример 1

В 1000 мл четырехгорлую колбу, снабженную трубкой для ввода азота и холодильником, внесли 300 г 90%-ного водного раствора D, L-молочной кислоты и 100 г 90%-ного водного раствора L-молочной кислоты и содержимое нагревали при пониженном давлении в токе газообразного азота от 100°C/500 мм Hg до 150°C/30 мм Hg в течение 4 часов с постоянным удалением дистиллятной воды. Далее реакционную смесь нагревали при пониженном давлении при 3-5 мм Hg /150-180°C в течение 7 часов, после чего ее охладили, получив полимолочную кислоту янтарного цвета.

Этот полимер растворили в 1000 мл дихлорметана и раствор вылили в теплую воду при 60°C при постоянном перемешивании. Образовавшийся вязкий

полимерный осадок собрали и высушили при пониженном давлении при 30°C.

Средневесовой молекулярный вес и среднечисловой молекулярный вес, определенные GPC, и среднечисловой молекулярный вес, найденный путем определения концевых групп вышеупомянутой молочной кислоты, составили 3000; 1790 и 1297 соответственно. Эти данные показали, что полимер имел концевые карбоксильные группы.

Справочный пример 2

В 1000 мл четырехгорлую колбу, снабженную трубкой для ввода азота и холодильником, внесли 500 г 90%-ного водного раствора D,L-молочной кислоты и содержимое нагревали при пониженном давлении в токе газообразного азота от 100°C/500 мм Hg до 150°C/30 мм Hg в течение 4 часов с постоянным удалением дистиллятной воды. Далее реакционную смесь нагревали при пониженном давлении при 3-5 мм Hg/150-180°C в течение 12 часов, после чего ее охладили, получив полимолочную кислоту янтарного цвета.

Этот полимер растворили в 1000 мл дихлорметана и раствор вылили в теплую воду при 60°C при постоянном перемешивании. Образовавшийся вязкий полимерный осадок собрали и высушили при пониженном давлении при 30°C.

Средневесовой молекулярный вес и среднечисловой молекулярный вес, определенные GPC, среднечисловой молекулярный вес, найденный путем определения концевых групп вышеупомянутой молочной кислоты, составили 5000; 2561 и 1830 соответственно.

Эти данные показали, что полимер имел концевые карбоксильные группы.

Справочный пример 3

В 1000 мл четырехгорлую колбу, снабженную трубкой для ввода азота и холодильником, внесли 300 г 90%-ного водного раствора D,L-молочной кислоты и 100 г 90%-ного водного раствора L-молочной кислоты и содержимое нагревали при пониженном давлении в токе газообразного азота от 100°C/500 мм Hg до 150°C/30 мм Hg в течение 5 часов с постоянным удалением дистиллированной воды. Далее реакционную смесь нагревали при пониженном давлении при 5-7 мм Hg/150-180°C в течение 18 часов, после чего ее охладили, получив полимолочную кислоту янтарного цвета.

Этот полимер растворили в 1000 мл дихлорметана и раствор вылили в теплую воду при 60°C при постоянном перемешивании. Образовавшийся вязкий полимерный осадок собрали и высушили при пониженном давлении при 30°C.

Средневесовой молекулярный вес и среднечисловой молекулярный вес, определенные GPC, среднечисловой молекулярный вес, найденный путем определения концевых групп вышеупомянутой молочной кислоты, составили 7500; 3563 и 2301 соответственно.

Эти данные показали, что полимер имел концевые карбоксильные группы.

Справочный пример 4

В 1000 мл четырехгорлую колбу, снабженную трубкой для ввода азота и холодильником, внесли 300 г 90%-ного

R
U
2
1
2
8
0
5
5
C
1

водного раствора D,L-молочной кислоты и 100 г 90%-ного водного раствора L-молочной кислоты и содержимое нагревали при пониженном давлении в токе газообразного азота от 100°C/500 мм Hg до 150°C/30 мм Hg в течение 5 часов с постоянным удалением дистиллятной воды. Далее реакционную смесь нагревали при пониженном давлении при 5-7 мм Hg/150-180°C в течение 26 часов, после чего ее охладили, получив полимолочную кислоту янтарного цвета.

Этот полимер растворили в 1000 мл дихлорметана и раствор вылили в теплую воду при 60°C при постоянном перемешивании. Образовавшийся вязкий полимерный осадок собрали и высушили при пониженном давлении при 30°C.

Средневесовой молекулярный вес и среднечисловой молекулярный вес, определенные GPC, и среднечисловой молекулярный вес, найденный путем определения концевых групп вышеупомянутой молочной кислоты составили 9000; 3803 и 2800 соответственно. Эти данные показали, что полимер имел концевые карбоксильные группы.

Справочный пример 5

В 1000 мл четырехгорлую колбу, снабженную трубкой для ввода азота и холодильником, внесли 182,5 г гликоловой кислоты и 166,6 D,L-2-оксимасляной кислоты и содержимое нагревали при пониженном давлении в токе газообразного азота от 100 °C/500 мм Hg до 150°C/30 мм Hg в течение 3,5 часов с постоянным удалением дистиллятной воды. Далее реакционную смесь нагревали при пониженном давлении при 5-7 мм Hg и 150-180°C в течение 26 часов, после чего ее охладили, получив сополимер гликоловой кислоты-2-оксимасляной кислоты янтарного цвета.

Этот полимер растворили в 1000 мл дихлорметана и раствор вылили в теплую воду при 60°C при постоянном перемешивании. Образовавшийся вязкий полимерный осадок собрали и высушили при пониженном давлении при 25°C.

Средневесовой молекулярный вес, определенный GPC, образовавшегося сополимера гликоловой кислоты-2-оксимасляной кислоты составил 13000.

Справочный пример 6

В 1000 мл четырехгорлую колбу, снабженную трубкой для ввода азота и холодильником, внесли 197,7 г гликоловой кислоты и 145,8 г D,L-2-оксимасляной кислоты и содержимое нагревали при пониженном давлении в токе газообразного азота от 100 °C/500 мм Hg до 155°C/30 мм Hg в течение 4 часов с постоянным удалением дистиллированной воды. Далее реакционную смесь нагревали при пониженном давлении при 3-6 мм Hg/150-185°C в течение 27 часов, после чего ее охладили, получив сополимер гликоловой кислоты - 2-оксимасляной кислоты янтарного цвета.

Этот полимер растворили в 1000 мл дихлорметана и раствор вылили в теплую воду при 60°C при постоянном перемешивании. Образовавшийся вязкий полимерный осадок собрали и высушили при пониженном давлении при 25°C.

Средневесовой молекулярный вес,

определенный GPC, образовавшегося сополимера гликоловой кислоты-2-оксимасляной кислоты составил 13000.

Справочный пример 7

В 1000 мл четырехгорлую колбу, снабженную трубкой для ввода азота и холодильником, внесли 212,9 г гликоловой кислоты и 124,9 г D,L-2-оксимасляной кислоты и содержимое нагревали при пониженном давлении в токе газообразного азота от 100 °C/500 мм Hg до 160°C/30 мм Hg в течение 3,5 часов с постоянным удалением дистиллятной воды. Далее реакционную смесь нагревали при пониженном давлении при 3-6 мм Hg/160-180°C в течение 27 часов, после чего ее охладили, получив сополимер гликоловой кислоты-2-оксимасляной кислоты янтарного цвета.

Этот полимер растворили в 1000 мл дихлорметана и раствор вылили в теплую воду при 60°C при постоянном перемешивании. Образовавшийся вязкий полимерный осадок собрали и высушили при пониженном давлении при 25°C.

Средневесовой молекулярный вес, определенный GPC, образовавшегося сополимера гликоловой кислоты - 2-оксимасляной кислоты составил 11000.

Справочный пример 8

В 1000 мл четырехгорлую колбу, снабженную трубкой для ввода азота и холодильником, внесли 300 г 90% водного раствора D,L-молочной кислоты и 100 г 90% водного раствора L-молочной кислоты и содержимое нагревали при пониженном давлении в токе газообразного азота от 100 °C/500 мм Hg до 150°C/30 мм Hg в течение 4 часов с постоянным удалением дистиллированной воды. Далее реакционную смесь нагревали при пониженном давлении при 3-5 мм Hg и 150-180°C в течение 10 часов, после чего ее охладили, получив полимолочную кислоту янтарного цвета.

Этот полимер растворили в 1000 мл дихлорметана и раствор вылили в теплую воду при 60°C при постоянном перемешивании. Образовавшийся вязкий полимерный осадок собрали и высушили при пониженном давлении при 30°C.

Средневесовой молекулярный вес и среднечисловой молекулярный вес, определенные GPC, и среднечисловой молекулярный вес, найденный путем определения концевых групп, вышеупомянутой полимолочной кислоты, составили 4200; 2192 и 1572 соответственно.

Эти данные показали, что полимер имел концевые карбоксильные группы.

Справочный пример 9

В 1000 мл четырехгорлую колбу, снабженную трубкой для ввода азота и холодильником, внесли 182,5 г гликоловой кислоты и 166,6 D,L-2-оксимасляной кислоты и содержимое нагревали при пониженном давлении в токе газообразного азота от 100 °C/500 мм Hg до 150°C/30 мм Hg в течение 3,5 часов с постоянным удалением дистиллированной воды. Далее реакционную смесь нагревали при пониженном давлении при 5-7 мм Hg и 150-180°C в течение 32 часов, после чего ее охладили, получив сополимер гликоловой кислоты-2-оксимасляной кислоты янтарного

R U C 1 2 8 0 5 5 C 1

цвета.

Этот полимер растворили в 1000 мл дихлорметана и раствор вылили в теплую воду при 60°C при постоянном перемешивании. Образовавшийся вязкий полимерный осадок собрали и высушили при пониженном давлении при 25°C.

Средневесовой молекулярный вес и среднечисловой молекулярный вес, определенные GPC, и среднечисловой молекулярный вес, найденный путем определения концевых групп, образовавшегося сополимера гликоловой кислоты - 2 -оксимасляной кислоты составили 16300; 5620 и 2904 соответственно.

Эти данные показали, что полимер имел концевые карбоксильные группы.

Справочный пример 10

Синтез

NacD2Nal-D4ClPhe-D3Pal-Ser-NMeTyr-DLys(AzaglyFur)-Leu-Lys(Nisp)-Pro-DAlaNH₂

Справочные примеры 10 и 11 выполнены в соответствии с описанием патента США N 5.110.904 и патентной заявки США N 07/987.921.

С целью синтеза названного в заглавии пептида в реактор аппарата для синтеза пептидов добавили 1 г D-Ala-NH-смолы (4-метил-бензогидриламин смолы) и далее последовательно добавляли аминокислоты по следующей методике синтеза.

1. Реакция снятия защитных групп.

Для удаления защитной ВОС группы из альфа-аминокислоты пептида использовали раствор, содержащий 45% трифторуксусной кислоты (обозначена здесь позднее как TFA), 2,5% анизола, 2,0% диметил фосфита и 50,5% дихлорметана. После предварительного промывания смолы раствором в течение 1 минуты реакция по снятию защитной группы проводилась в течение 20 минут.

2. Промывание основным раствором.

С целью удаления и нейтрализации трифторуксусной кислоты использовали раствор дихлорметана, содержащий 10% N,N'-дизопропилэтамина. В каждой реакции по снятию защитной группы смолу промывали трижды по 1 минуте.

3. Реакция присоединения

Реакцию присоединения проводили, используя в качестве активаторов 3-кратное молярное количество 0,3 М дизопропилкарбодиимид/дихлорметан раствора и 3-кратное молярное количество 0,3 М раствора ВОС производного аминокислоты /ДМФ (N,N-диметилформамида). Активированная аминокислота присоединялась к свободной альфа-аминогруппе пептида на смоле. Время взаимодействия приведено ниже.

4. Промывание

После завершения каждого реакционного процесса смолу промывали дихлорметаном, дихлорметаном/ДМФ и ДМФ, каждым в течение 1 минуты.

Протокол синтеза

Аминокислоты с защищенными аминогруппами присоединялись к смоле в порядке, с частотой и в течение времени, указанных в табл.А.

После завершения синтетической реакции смолу обрабатывали 30%-ным раствором пиперидина в ДМФ в течение от 4 до 24 часов с целью удаления защитной FMOC-группы.

Смолу промывали несколько раз дихлорметаном и затем подвергали взаимодействию с карбонилдиимидаэзолом (0,9 г) растворенным в ДМФ (18 мл) в течение 15 минут и промывали трижды дихлорметаном, после чего оставляли на ночь реагировать с гидразидом 2-фуранкарбоновой кислоты (0,53 г), растворенным в ДМФ (18 мл).

Образовавшуюся пептидную смолу промывали трижды дихлорметаном и затем высушили в присутствии пятиокси фосфора за ночь, после чего смолу обрабатывали сухим фтористым водородом при 0°C в течение 1 часа в присутствии анизола, чтобы отделить пептид от смолы. Избыток взаимодействующего реагента удалили в условиях пониженного давления. Полученную таким образом смолу промывали сначала диэтиловым эфиром, затем перемешивали при комнатной температуре сначала диэтиловым эфиром, затем перемешивали при комнатной температуре в течение 15 минут в 50 мл смеси вода/ацетонитрил/уксусная кислота (1: 1: 0,1) и отфильтровывали. Фильтрат лиофилизовали, получив очищенный пептид в виде рыхлого порошка. Этот пептид очистили жидкостной хроматографией с высокими рабочими характеристиками (НР С), используя следующие условия:

- 1) Колонка: динамакс С-18 (25•2,5 см, 8 мкм)
- 2) Растворитель: ацетонитрильный градиент восхождения составляет 20 минут из смеси 89% воды/11% ацетонитрила/0,1% TFA
- 3) Определение при длине волны: 260 нм (УФ-метод)

Пептид, определенный по отдельному пику при 25,7 минутах времени удерживания, собрали и лиофилизовали, получив очищенный продукт NacD2Nal-D4ClPhe-D3Pal-Ser-NMeTyr-DLys(AzaglyFur)-Leu-Lys(Nisp)-Pro-DAlaNH₂ в виде трифторацетата. Данные по физическим свойствам для очищенного продукта следующие:

FAB (быстрая бомбардировка атомами, такая же применена ниже) масс спектрометрия: m/e 1591 (M+H)⁺
Анализ аминокислот: 0,98 Ala, 1,02 Pro, 1,58 Lys, 1,00 Leu, 1,12 NMeTyr, 0,52 Ser.

Вышеупомянутый трифторацетат пептида превратили в ацетат, используя колонку для гель-фильтрации, предварительно уравновешенную 1 н. уксусной кислотой. Условия гель-фильтрации следующие:

1) Надсадочный материал: Сефадекс G-25, внутренний диаметр колонки 16 мм, высота слоя насадки 40 мм)

2) Растворитель: 1 н. уксусная кислота

3) Определение при длине волны: 254 нм (УФ-метод). Фракция первого вымываемого пика была собрана и лиофилизована, что дало очищенный продукт NacD2Nal-D4ClPhe-D3Pal-Ser-NMeTyr-DLys(AzaglyFur)-Leu-Lys(Nisp)-Pro-DAlaNH₂ в виде ацетата.

Справочный пример 11

Синтез
NAcD2Nal-D4ClPhe-D3Pal-Ser-NMeTyr-DLys(AzaglyNic)-Leu-Lys(Nisp)-Pro-DAlaNH₂

Названный в заглавии пептид синтезировали по той же методике, что в Справочном примере 10, за тем исключением,

R U C 1 2 8 0 5 5 C 1

R U
2 1 2 8 0 5 5 C 1

что гидразид 2-фуранкарбоновой кислоты заменен на гидразид-2-никотиновой кислоты (0,575 г). Полученное при этом MPLC время удержания очищенного продукта составило 16,0 минут. Данные по физическим свойствам очищенного продукта следующие:

FAB масс-спектрометрия: m/e 1592 (M+H); анализ аминокислоты 1,02 Ala, 1,01 Pro, 1,61 Lys, 0,99 Leu, 1,12 NMeTyr, 0,48 Ser.

Вышеприведенный трифторацетат пептида превратили в ацетат по приведенной выше методике Примера 10.

Справочный пример 12

В 1000 мл четырехгорлую колбу, снабженную трубкой для ввода азота и холодильником, внесли 322 г 90% водного раствора D,L-молочной кислоты и 133 г гликоловой кислоты и используя накидной колбонагреватель (So-go Rikagaku Glass Co.), содержимое нагревали при пониженном давлении в токе азота от 100°C/500 мм Hg до 150°C/30 мм Hg в течение 4 часов с постоянным удалением дистиллятной воды. Далее реакционную смесь нагревали при пониженном давлении при 3-30 мм Hg/150-185 °C в течение 23 часов, после чего ее охладили, получив сополимер молочной кислоты-гликоловой кислоты.

Этот полимер растворили в 1000 мл дихлорметана и раствор вылили в теплую воду при 60°C при постоянном перемешивании. Образовавшийся вязкий полимерный осадок собрали и высушили при пониженном давлении при 30°C.

Средневесовой молекулярный вес и среднечисловой молекулярный вес, определенные GPC, и среднечисловой молекулярный вес, найденный путем определения концевых групп, образовавшегося сополимера молочной кислоты - гликоловой кислоты составили 10000; 4000 и 4000 соответственно.

Эти данные показали, что сополимер имел концевые карбоксильные группы.

Справочный пример 13

В 1000 мл четырехгорлую колбу, снабженную трубкой для ввода азота и холодильником, внесли 347 г 90%-ного водного раствора D,L-молочной кислоты и 266 г гликоловой кислоты, используя колбонагреватель (So-go Rikagaku Galiss Co.), содержимое нагревали при пониженном давлении в токе азота от 100°C/500 мм Hg до 150°C/30 мм Hg в течение 5 часов с постоянным удалением дистиллятной воды. Далее реакционную смесь нагревали при пониженном давлении при 3-30 мм Hg/150-185 °C в течение 23 часов, после чего ее охладили, получив сополимер молочной кислоты - гликоловой кислоты.

Этот полимер растворили в 1000 мл дихлорметана и раствор вылили в теплую воду при 60°C при постоянном перемешивании. Образовавшийся вязкий полимерный осадок собрали и высушили при пониженном давлении при 30°C.

Средневесовой молекулярный вес и среднечисловой молекулярный вес, определенные GPC, и среднечисловой молекулярный вес, найденный путем определения концевых групп, образовавшегося сополимера молочной кислоты - гликоловой кислоты составили 10000, 3700 и 3900 соответственно. Эти

данные показали, что сополимер имел концевые группы.

Пример 14

NAcD2Nal-D4CIPhe-D3Pal-Ser-NMeTyr-DLys(Nic)-Leu-Lys(Nisp)-Pro-DAlaNH₂

(изготовлен путем ТАР, далее здесь называется для краткости физиологически активным пептидом А) ацетат, 200 мг растворили в растворе смеси 50:50 (3,8 г) сополимера гликоловой кислоты - 2-оксимасляной кислоты, полученного в справочном примере 5, и полимолочной кислоты, полученной в справочной примере 1 в 5,3 г (4,0 мл) дихлорметана. Образовавшийся раствор охладили до 17 °C и вылили в 1000 мл 0.1% (вес/вес) водного раствора поливинилового спирта (EG-40, Nippon Synthetic Chemical Industry Co., Ltd), предварительно доведенного до 10°C, и смесь эмульгировали, используя турбинный гомосмеситель при 7000 об/мин для приготовления O/W эмульсии. Этую O/W эмульсию перемешивали при комнатной температуре в течение 3 часов с целью упаривания дихлорметана. Масляной фазе дали затвердеть и собрали центрифугированием (05PR-22, Hitachi, Ltd) при 2000 об/мин. Этот твердый продукт повторно диспергировали в дистиллированной воде и дополнительно центрифугировали, чтобы смыть свободное лекарственное средство и т.д. Собранные микрокапсулы повторно диспергировали в небольшом количестве дистиллированной воды с последующим добавлением 0.3 г D-маннитола и подвергли сушке при температуре ниже точки замерзания для получения порошка. Распределение частиц по размерам и содержание физиологически активного пептида А для микрокапсул составили от 5 до 60 мкм и 4,7% (вес/вес) соответственно.

Описанным выше способом изготовлены препараты следующих физиологически активных пептидов (1) и (2).

(1) NAcD2Nal-D4CIPhe-D3Pal-Ser-NMeTyr-DLys(AzaglyNic)-Leu-Lys(Nisp)-Pro-DAlaNH₂

(2) NAcD2Nal-D4CIPhe-D3Pal-Ser-NMeTyr-DLys(AzaglyFur)-Leu-Lys(Nisp)-Pro-DAlaNH₂

Пример 15 В растворе 50:50 смеси (3,8 г) сополимера гликоловой кислоты-2-оксимасляной кислоты, полученного в Справочном примере 5, и полимолочной кислоты, полученной в Справочной примере 2 в 6,7 г (5,0 мл) дихлорметана, растворили 200 мг ацетата физиологически активного пептида А. Этот раствор охладили до 17°C и вылили в 1000 мл 0,1%-ного водного раствора поливинилового спирта, предварительно доведенного до 17°C, и смесь обработали как в примере 1 с целью получения микрокапсул. Распределение частиц по размеру и содержание физиологически активного пептида А для микрокапсул составили от 5 до 65 мкм в 5.0% (вес/вес) соответственно.

Пример 16

В растворе 50:50 смеси (3,8 г) сополимера гликоловой кислоты - 2 - оксимасляной кислоты, полученного в Справочном примере 5, и полимолочной кислоты, полученной в справочном примере 3 в 6,7 г (5.0 мл) дихлорметана, растворили 200 мг ацетата физиологически активного пептида А. Этот

R U 2 1 2 8 0 5 5 C 1

R
U
2
1
2
8
0
5
5
C
1

раствор охладили до 17°C и вылили в 1000 мл 0,1%-ного водного раствора поливинилового спирта, предварительно доведенного до 17°C, и смесь обработали как в примере 1 с целью получения микрокапсул. Распределение частиц по размеру и содержание физиологически активного пептида А для микрокапсул составили от 10 до 60 мкм и 4,8% (вес/вес) соответственно.

Пример 17.

В растворе 50:50 смеси (3,8 г) сopolимера гликоловой кислоты - 2-оксимасляной кислоты, полученного в справочном примере 5, и полимолочной кислоты, полученной в справочном примере 4 в 6,7 г (5,0 мл) дихлорметана, растворили 200 г ацетата физиологически активного пептида А. Этот раствор охладили до 17°C и вылили в 1000 мл 0,1%-ного водного раствора поливинилового спирта, предварительно доведенного до 17°C и смесь обработали как в примере 1 с целью получения микрокапсул. Распределение частиц по размеру и содержание физиологически активного пептида А для микрокапсул составили от 10 до 75 мкм и 4,6% (вес/вес) соответственно.

Пример 18.

В растворе 50:50 смеси (3,8 г) сopolимера гликоловой кислоты - 2-оксимасляной кислоты, полученного в справочном примере 6, и полимолочной кислоты, полученной в справочном примере 2 в 6,0 г (4,5 мл) дихлорметана, растворили 200 г ацетата физиологически активного пептида А. Этот раствор охладили до 17°C и вылили в 1000 мл 0,1%-ного водного раствора поливинилового спирта, предварительно доведенного до 10°C, и смесь обработали как в примере 1 с целью получения микрокапсул. Распределение частиц по размеру и содержание физиологически активного пептида А для микрокапсул составили от 5 до 60 мкм и 4,9% (вес/вес) соответственно.

Пример 19.

В растворе 50:50 смеси (3,8 г) сopolимера гликоловой кислоты - 2-оксимасляной кислоты, полученного в справочном примере 7, и полимолочной кислоты, полученной в справочном примере 2 в 6,0 г (4,5 мл) дихлорметана, растворили 200 г ацетата физиологически активного пептида А. Этот раствор охладили до 17°C и вылили в 1000 мл 0,1%-ного водного раствора поливинилового спирта, предварительно доведенного до 17°C и смесь обработали как в примере 1 с целью получения микросфер. Распределение частиц по размеру и содержание физиологически активного пептида А в микрокапсулах составили от 10 до 65 мкм и 4,9% (вес/вес) соответственно.

Пример 20.

В растворе 50:50 смеси (3,6 г) сopolимера гликоловой кислоты - 2-оксимасляной кислоты, полученного в справочном примере 9, и полимолочной кислоты, полученной в справочном примере 8 в 7,0 г (5,3 мл) дихлорметана, растворили 400 г ацетата физиологически активного пептида А. Этот раствор охладили до 17°C и вылили в 1000 мл 0,1%-ного водного раствора поливинилового спирта, предварительно доведенного до 17°C, и смесь обработали как в примере 1 с целью получения микрокапсул. Распределение частиц по размеру и

содержание физиологически активного пептида А для микрокапсул составили от 5 до 65 мкм и 7,2% (вес/вес) соответственно.

Пример 21

240 мг ацетата NAcD2Nal-D4CIPhe-D3Pal-Ser-NMeTyr-DLys(AzaglyNic)-Leu-Lys(Nisp)-Pro-DAlaNH₂ (далее называемого для краткости физиологически активным пептидом В), полученного в справочном примере 11, растворили в растворе 50: 50 смеси (1,76 г) сopolимера гликоловой кислоты-2-оксимасляной кислоты, полученного в справочном примере 9, и полимолочной кислоты, полученной в справочном примере 8 в 3,2 г (2,4 мл) дихлорметана. Образовавшийся раствор охладили до 18°C и вылили в 400 мл 0,1%-ного водного раствора поливинилового спирта, предварительно доведенного до 16 °C, и смесь обработали как в примере 1 с целью получения микрокапсул. Распределение частиц по размеру и содержание физиологически активного пептида В для микрокапсул составили от 5 до 70 мкм и 10,3% (вес/вес) соответственно.

Пример 21

240 мг ацетата NAcD2Nal-D4CIPhe-D3Pal-Ser-NMeTyr-DLys(AzaglyFur)-Leu-Lys(Nisp)-Pro-DAlaNH₂ (далее называемого для краткости физиологически активным пептидом С), полученного в справочном примере 10, растворили в растворе 50: 50 смеси (1,76 г) сopolимера гликоловой кислоты-2-оксимасляной кислоты, полученного в справочном примере 9, и полимолочной кислоты, полученной в справочном примере 8 в 3,2 г (2,4 мл) дихлорметана. Образовавшийся раствор охладили до 18°C и вылили в 400 мл 0,1%-ного водного раствора поливинилового спирта, предварительно доведенного до 16 °C и смесь обработали как в примере 1 с целью получения микрокапсул. Распределение частиц по размеру и содержание физиологически активного пептида С для микрокапсул составили от 5 до 65 мкм и 10,9% (вес/вес) соответственно.

Пример 22

N-Тетрагидрофур-2-оил-Gly-D2Nal-D4CIPhe-D3Pal-Ser-NMeTyr-DLys(Nic)-Leu-Lys(Nisp)-Pro-DAlaNH₂ (изготавливаемый в промышленности ТАР; далее называемый здесь для краткости физиологически активным пептидом D) ацетат [FAB масс-спектрометрии: m/e 1647 (M^+H^+)], 240 мг, растворили в растворе 50:50 смеси (1,76 г) сopolимера гликоловой кислоты-2-оксимасляной кислоты, полученного в справочном примере 9, и полимолочной кислоты, полученной в справочном примере 8 в 3,2 г (2,4 мл) дихлорметана. Образовавшийся раствор охладили до 18°C и вылили в 400 мл 0,1%-ного водного раствора поливинилового спирта, предварительно доведенного до 16 °C, и смесь обработали как в примере 1 с целью получения микрокапсул. Распределение частиц по размеру и содержание физиологически активного пептида D для микрокапсул составили от 5 до 70 мкм и 10,5% (вес/вес) соответственно.

Пример 23

200 мг ацетата физиологически активного пептида А добавили и растворили в растворе

RU 2 1 2 8 0 5 5 C 1

сополимера молочной кислоты-гликолевой кислоты (молочная кислота/гликолевая кислота = 75/25 (мол.%), GPC средневесовой молек. вес = 5000, GPC среднечисловой молек. вес. = 2000, среднечисловой молекулярный вес, определенный по концевым группам = 2200; производитель Wako Pure Chemical (Lot. 920729)) в 5,3 г (4,0 мл) дихлорметана. Образовавшийся раствор охладили до 17°C и вылили в 1000 мл 0,1%-ного водного раствора поливинилового спирта (EG-40, Nippon Synthetic Chemical Industry Co., Ltd), предварительно доведенного до 16°C, и смесь эмульгировали, используя турбинный смеситель при 7000 об/мин для получения O/W эмульсии. Эту O/W эмульсию перемешивали при комнатной температуре в течение 3 часов для упаривания дихлорметана. Масляной фазе дали затвердеть и собрали с помощью центрифуги (05PR-22, Hitachi) при 2000 об/мин. Этот твердый продукт повторно диспергировали в дистиллированной воде и дополнительно центрифугировали для вымывания свободного лекарственного средства и т.д. Собранные микрокапсулы повторно диспергировали в небольшом количестве дистиллированной воды с последующим добавлением 0,3 г D-маннитола и подвергли сушке при температуре ниже точки замерзания для получения порошка. Распределение частиц по размеру и содержание физиологически активного пептида А для микрокапсул составили от 5 до 60 мкм и 4,7% (вес/вес) соответственно.

Приведенным выше способом изготовлен препарат замедленного высвобождения следующих пептидов (1) и (2):

- 1) ацетат физиологически активного пептида В;
- 2) ацетат физиологически активного пептида С.

Пример 24

200 мг ацетата физиологически активного пептида А добавили и растворили в растворе 3,8 г сополимера молочной кислоты-гликолевой кислоты (молочная кислота/гликолевая кислота = 75/25 (мол.%), GPC средневесовой молек. вес = 10000, GPC среднечисловой молек. вес = 4400, среднечисловой молек. вес, определенный по концевым группам, 4300; изготовитель Wako Pure Chemical (Lot. 880530)) в 6,7 г (5,0 мл) дихлорметана. Образовавшийся раствор охладили до 17°C и вылили в 1000 мл 0,1%-ного водного раствора поливинилового спирта, предварительно доведенного до 11 °C. Затем повторили методику примера 11 с целью получения микрокапсул. Распределение частиц по размеру и содержание физиологически активного пептида А для микрокапсул составили от 5 до 65 мкм и 4,5% (вес/вес) соответственно.

Пример 25

400 мг ацетата физиологически активного пептида А растворили в растворе сополимера молочной кислоты-гликолевой кислоты, полученного в справочном примере 12, 3,6 г в 8,0 г (6,0 мл) дихлорметана. Образовавшийся раствор охладили до 15°C и вылили в 1000 мл 0,1%-ного раствора поливинилового спирта, предварительно доведенного до 14 °C. Далее, повторили методику примера 11

для получения микрокапсул. Распределение частиц по размеру и содержание физиологически активного пептида А для микрокапсул составили от 5 до 65 мкм и 8,2% (вес/вес) соответственно.

Пример 26

400 мг ацетата физиологически активного пептида А растворили в растворе сополимера молочной кислоты-гликолевой кислоты, полученного в справочном примере 13, 3,6 г в 8,0 г (6,0 мл) дихлорметана. Образовавшийся раствор охладили до 15°C и вылили в 1000 мл 0,1%-ного раствора поливинилового спирта, предварительно доведенного до 15 °C. После этого повторили методику примера 11 для получения микрокапсул. Распределение частиц по размеру и содержание физиологически активного пептида А для микрокапсул составили от 5 до 65 мкм и 8,4% (вес/вес) соответственно.

Пример 27

20 Ацетат лейпролерина (изготовитель: Takeda Chemical Industries), 400 мг добавили к раствору того же сополимера молочной кислоты-гликолевой кислоты, который использован в примере 12, 3,6 г в 8,0 (6,0 мл) дихлорметана для приготовления прозрачного гомогенного раствора. Образовавшийся раствор охладили до 15°C и вылили в 1000 мл 0,1%-ного раствора поливинилового спирта, предварительно доведенного до 15°C. После этого повторили методику примера 11 для получения микрокапсул.

Экспериментальный пример 28

Приблизительно 30 мг микрокапсул, полученных в примере 1, диспергировали в дисперсионной среде (раствор 2,5 мг карбоксиметилцеллюлозы, 0,5 мг полисорбата 80 и 25 мг маннитола в дистиллированной воде) и дисперсию впрынули подкожно в спину 10-недельных самцов SD крыс, используя 22С-иглу (дозировка микрокапсул составляла 60 мкг/кг). Последовательно после введения крысы умершвали, остатки микрокапсул извлекали из участка введения и определяли количество физиологически активного пептида А в микрокапсулах. Результаты показаны в табл. 1.

Экспериментальные примеры 29-33

Используя микрокапсулы, полученные в примерах 2-6, были определены остаточные количества физиологически активного пептида А также, как в экспериментальном примере 28. Результаты также показаны в табл. 1.

Из табл. 1 ясно, что все микрокапсулы согласно изобретению характеризуются в значительной степени постоянным высвобождением физиологически активного пептида и кроме того, характеризуются значительной степенью свободы от начального импульса.

Табл. 2 показывает модели линейной регрессии, коэффициенты корреляции и периоды высвобождения, рассчитанные как X-отрезок, отсекаемый на оси координат, которые определены по способу биопробы (автор Akira Sakuma, Tokyo University Press, June 5, 1978, p. 111)

Из табл. 2 ясно, что путем изменения средневесового молекулярного веса полимолочной кислоты, смешиваемой с сополимером гликолевой

R U
2 1 2 8 0 5 5 C 1

кислоты-2-оксимасляной кислоты, продолжительность высвобождения может легко контролироваться в интервале приблизительно от 3,5 недель до 11,5 недель.

Табл. 3 показывает модели линейной регрессии, коэффициенты корреляции и периоды высвобождения как отрезок, отсекаемый кривой на оси X-координат, которые определены из данных табл. 1 тем же способом, что использован в табл. 2.

Из табл. 3 ясно, что путем изменения мольной доли гликоловой кислоты в сополимере гликоловой кислоты-2-оксимасляной кислоты, продолжительность высвобождения может легко контролироваться в интервале приблизительно от 3,1 недель до 6,6 недель.

Экспериментальные примеры 34-36

Используя микрокапсулы, полученные в примерах 34-36, остаточные количества физиологически активного пептида в микрокапсулах определили как в справочном примере 1, за тем исключением, что дозировка микрокапсул составляла приблизительно 30 мг/кг. Результаты показаны в табл. 4. Табл. 5 показывает модели линейной регрессии, коэффициенты корреляции и периоды высвобождения, рассчитанные как X-отрезок на оси координат, которые определены в данных табл. 4 по той же методике, что использована в табл. 2.

Из табл. 4 и 5 ясно, что микрокапсулы согласно настоящему изобретению характеризуются в основном постоянным высвобождением физиологически активного пептида и, кроме того, характеризуются значительной степенью свободы от начального импульса.

Экспериментальный пример 37

Использованием микрокапсул, полученных в примере 37, определены остаточные количества физиологически активного пептида также, как в Экспериментальном примере 34. Результаты показаны в табл. 6. Табл. 7 показывает модели линейной регрессии, коэффициенты корреляции и периоды высвобождения, рассчитанные как X-отрезки на оси координат, которые определены из данных табл. 6 по методике, использованной в табл. 2.

Из табл. 6 и 7 ясно, что микрокапсулы согласно настоящему изобретению характеризуются в основном постоянным высвобождением физиологически активного пептида и, кроме того, характеризуются значительной степенью свободы от начального импульса.

Экспериментальный пример 38

Около 30 мг капсул, полученных в примере 38, диспергировали в 0,5 мл дисперсионной среды (приготовленной растворением карбоксиметилцеллюлозы (2,5 мг), полисорбата 80 (0,5 мг) и маннитола (25 мг) в дистиллированной воде) и дисперсию впрынули подкожно в спину 10-недельных самцов SD крыс, используя 22G иглу (дозировка микрокапсул составляла 60 мг/кг). Последовательно после введения крыс умерщвляли, остатки микрокапсул извлекали из участка введения и определяли количество физиологически активного пептида А в микрокапсулах. Результаты показаны в табл. 8.

Экспериментальный пример 39

Используя микрокапсулы, полученные в

примере 39, в остальном повторили методику экспериментального примера 38 и исследовали остаток физиологически активного пептида А. Результаты показаны в табл. 8.

Экспериментальный пример 40

Используя микрокапсулы, полученные в экспериментальном примере 40, в остальном повторили методику экспериментального примера 38 и исследовали остаток физиологически активного пептида А. Результаты показаны в табл. 8.

Экспериментальный пример 41

Используя микрокапсулы, полученные в примере 41, в остальном повторили методику экспериментального примера 38 и исследовали физиологически активный пептид А. Результаты показаны в табл. 8.

Табл. 9 показывает модели линейной регрессии, коэффициенты корреляции и периоды высвобождения, как X-отрезки на оси координат, которые определены из данных табл. 8 по тем же методикам, что использованы в табл. 2.

Из табл. 8 и 9 ясно, что препарат замедленного высвобождения согласно настоящему изобретению неизменно обеспечивает в значительной степени постоянное высвобождение пептида А на различных отрезках времени.

Пример сравнения 42

400 мг ацетата физиологически активного пептида А добавили в раствор сополимера молочной кислоты/гликоловой кислоты ((молочная кислота/гликоловая кислота = 50/50 (мол.%), GPC средневесовой молекул. вес = 58000, GPC среднечисловой молек. вес = 14000, среднечисловой молек. вес, определенный по концевым группам = 45000; производитель: Boehringer-Ingelheim (Lot. RG 505-05077), 3,6 г, в 33,2 г (25,0 мл) дихлорметана, но ацетат физиологически активного пептида А может быть не полностью растворенным).

Пример сравнения 43

400 мг ацетата физиологически активного пептида А добавили к раствору сополимера молочной кислоты-гликоловой кислоты (молочная кислота/гликоловая кислота = 75/25 (мол.%), GPC средневесовой молекул. вес = 18000, GPC среднечисловой молек. вес = 8400, среднечисловой молек. вес, определенный по концевым группам = 30000; изготовитель: Boehringer-Ingelheim (Lot. RG 752-15057), 3,6 г, в 8,0 г (6,0 мл) дихлорметана, но физиологически активный пептид А может быть не полностью растворенным. Эту дисперсию охладили до 17°C и выпили в 1000 мл 0,1%-ного водного раствора поливинилового спирта, предварительно доведенного до 15°C для приготовления микрокапсул по той же методике, что описана в примере 38. Распределение частиц по размеру и содержание физиологически активного пептида А для микрокапсул составили от 10 до 90 мкм и 2,5% (вес/вес) соответственно.

Пример сравнения 44

400 мг ацетата физиологически активного пептида А добавили к раствору сополимера молочной кислоты/гликоловой кислоты ((молочная кислота/гликоловая кислота = 75/25 (мол.%), GPC средневесовой молек. вес = 58000,

GPC среднечисловой молек. вес = 15000,

RU 2128055 C1

среднечисловой молек. вес, определенный по концевым группам = 53000; изготовитель: Boehringer-Ingelheim (Lot. RG 755-05019), 3,6 г, в 21,1 г (16,0 мл) дихлорметана, но физиологически активный пептид А может быть не полностью растворен. Эту дисперсию охладили до 17°C и вылили в 1000 мл 0,1%-ного водного раствора поливинилового спирта, предварительного доведенного до 16 °C с целью получения микрокапсул тем же способом, что в примере 38. Распределение частиц по размеру и содержание физиологически активного пептида А для микрокапсул составили от 10 до 90 мкм и 3,6% (вес/вес) соответственно.

Как показывают примеры сравнения 42-44, пептид [I] настоящего изобретения не может быть успешно растворен с сополимером молочной кислоты-гликолевой кислоты, имеющим в основном не концевую карбоксильную группу.

Пример сравнения 44

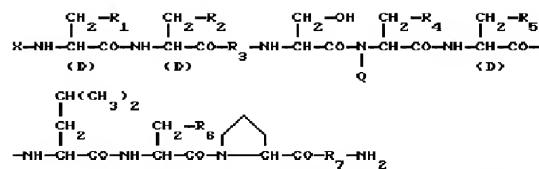
Ацетат лейпролерина (изготовитель: Takeda Chemical Industries) 400 мг, добавили к раствору того же самого сополимера молочной кислоты-гликолевой кислоты, что использован в примере сравнения 43, 3,6 г, в 8,0 г (6,0 мл) дихлорметана, но ацетат лейпролерина может быть не полностью растворен.

Препарат замедленного высвобождения настоящего изобретения показывает постоянное высвобождение лекарственного средства, особенно пептид [I] на протяжении длительного времени, обеспечивая таким образом длительный и стабильный эффект. Кроме того, продолжительность высвобождения лекарственного средства легко можно контролировать и чрезмерное высвобождение непосредственно после введения можно ингибиовать. В частности, гистамин-высвобождающая активность пептида [I] после введения препарата замедленного высвобождения ингибируется. Препарат замедленного высвобождения обладает прекрасной способностью к образованию дисперсии. Кроме того, препарат стабилен (например, по отношению к свету, нагреванию, влажности, окрашиванию) и низко токсичен, надежен при введении.

В соответствии с предложенным в настоящем изобретении способом производства препарат замедленного высвобождения, содержащий фармакологически активный пептид, может быть легко получен с хорошим выходом. Полученный таким образом препарат замедленного высвобождения имеет гладкую поверхность и обладает прекрасной мобильностю.

Формула изобретения:

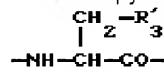
Фармацевтическая композиция замедленного высвобождения, которая включает физиологически активный пептид и биоразлагаемый полимер, отличающийся тем, что в качестве физиологически активного пептида она содержит пептид общей формулы I



в которой X представляет собой ацилгруппу;

R₁, R₂ и R₄ каждый представляет ароматическую циклическую группу;

R₃ представляет D-аминокислотный остаток или группу формулы (II)



в которой R'₃ – гетероциклическая группа;

R₅ представляет группу формулы $\text{--CH}_2-\text{R}'_5$, в которой n = 2 или

3, и R'₅ – аминогруппу, которая необязательно может быть замещенной, ароматическую циклическую группу или О-гликозид;

R₆ представляет группу формулы $\text{--CH}_2-\text{R}'_6$, в которой n = 2 или

3, и R'₆ – аминогруппу, которая может быть необязательно замещенной;

R₇ представляет D-аминокислотный или азаглицильный остаток;

Q – водород или низший алкил, или его соль и в качестве биоразлагаемого полимера, имеющий концевую карбоксильную группу, где значение среднего молекулярного веса этого полимера, определенного по концевым группам, от 0,4 до 2 раз больше, чем значение среднего молекулярного веса, определенного гельпроникающей хроматографией.

2. Композиция по п.1, отличающаяся тем, что содержит пептид формулы (I), где X - С₂₋₇-алканоил, необязательно замещенный 5- или 6-членной гетероциклической карбоксамидогруппой.

3. Композиция по п.2, отличающаяся тем, что X - С₂₋₄-алканоил, необязательно замещенный тетрагидрофурилкарбоксамидогруппой.

4. Композиция по п.1, отличающаяся тем, что содержит пептид формулы I, где X - ацетил.

5. Композиция по п.1, отличающаяся тем, что в качестве биоразлагаемого полимера содержит смесь (A) сополимера гликолевой кислоты и оксикарбоновой кислоты общей формулы II



нонссоон

в которой R - алкил, содержащий от 2 до 8 атомов углерода;

и (B) полимолочной кислоты.

6. Композиция по п.1, отличающаяся тем, что содержит пептид формулы I, где X - ацетил, а в качестве биоразлагаемого полимера - смесь (A) сополимера гликолевой кислоты и оксикарбоновой кислоты общей формулы II

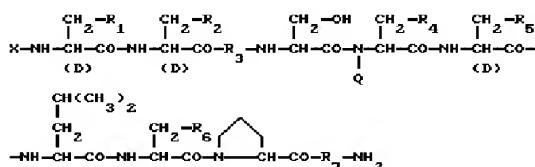


нонссоон

в которой R - алкил, содержащий от 2 до 8

**R
—
НОСНСООН,**

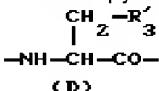
где R представляет алкил, содержащий 2 - 8 атомов углерода,
и (B) полимолочной кислоты при значении среднего молекулярного веса этих полимеров, определенного по концевым группам, от 0,4 до 2 раз больше, чем значение среднего молекулярного веса, определенного гельпроникающей хроматографией, и не растворимого в воде физиологически активного пептида общей формулы I



в которой X представляет собой ацильную группу;

R₁, R₂ и R₄ каждый представляет ароматическую циклическую группу;

R₃ представляет D-аминокислотный остаток или группу формулы (2)



в которой R'₃ гетероциклическая группа;

R₅ представляет группу формулы $\text{—CH}_2-\text{n}-\text{R}'_5$, в которой n = 2 или

5 3 и R'₅ аминогруппу, которая необязательно может быть замещенной, ароматическую циклическую группу или О-гликозил;

R₆ представляет группы формулы $\text{—CH}_2-\text{n}-\text{R}'_6$, в которой n = 2 или

10 3, и R'₆ – аминогруппу, которая может быть необязательно замещенной;

R₇ представляет D-аминокислотный или азаглицирный остаток;

15 Q - водород или иищий алкил; или его соли в растворителе, не смешивающемся с водой, и удаляют растворитель.

20 25 Способ по п.24, отличающийся тем, что образовавшийся раствор перед удалением растворителя добавляют к водной среде для получения эмульсии типа "масло в воде".

Приоритет

07.12.93. по п.1 - 3, 5, 7 - 14, 16, 18 - 20, 22, 24 и 25;

07.12.92 по п.4, 6, 17, 21 и 23

05.02.93 по п.15.

30

35

40

45

50

55

60

Порядок	Аминокислота	Частота-время
1	BOC-Pro	2 times - 1 hour
2	BOC-Lys (N-epsilon-Cbz, isopropyl)	2 times - 1 hour
3	BOC-Leu	2 times - 1 hour
4	BOC-D-Lys (N-azidyl-FMOC)	2 times - 1 hour
5	BOC-NMeTyr (O-2,6-diCl-BzI)	2 times - 1 hour
6	BOC-Ser (OBzl)	2 times - 1 hour
7	BOC-D-3-Pal	2 times - 5 hours
8	BOC-D-4ClPhe	2 times - 2 hours
9	BOC-D2nal	2 times - 2 hours
10	Acetic acid	2 times - 2 hours

Таблица 1

Экспериментальный пример	Остаток физиологически активного пептида А (%)							
	День 1	Неделя 1	Неделя 2	Неделя 3	Неделя 4	Неделя 5	Неделя 6	Неделя 7
28	88,0	66,5	42,3	15,2	-	-	-	-
29	92,8	76,6	62,6	49,7	39,6	26,5	-	-
30	96,5	90,5	77,5	64,9	59,2	46,9	-	-
31	99,4	94,5	87,2	78,3	68,0	-	38,7	20,3
32	92,9	75,0	45,7	-	17,5	-	48,8	30,7
33	92,3	61,3	33,5	6,4	-	-	-	-

Таблица 2

Экспериментальный пример	Средневзвешенное количество аминокислоты	Модель линейной регрессии	Коэффициент корреляции R ²	Период высвобождения (недели)
28	3000	Остаток (%) = 95,4 - (26,9 × число недель)	0,992	3,5
29	5000	Остаток (%) = 94,4 - (14,2 × число недель)	0,975	6,6
30	7500	Остаток (%) = 98,4 - (10,0 × число недель)	0,996	9,8
31	8000	Остаток (%) = 102,1 - (8,9 × число недель)	0,985	11,5

Таблица 3

Экспериментальный пример	Молярная доля гликопротеиновых кислот в сапонине гликопротеиновых кислот, %	Модель линейной регрессии	Коэффициент корреляции R ²	Период высвобождения (недели)
28	80	Остаток (%) = 94,4 - (14,2 × число недель)	0,975	8,6
32	65	Остаток (%) = 95,7 - (20,6 × число недель)	0,976	4,6
33	70	Остаток (%) = 96,5 - (30,9 × число недель)	0,994	3,1

Таблица 4

Экспериментальный пример	Физиологически активный пептид	Остаток физиологически активного пептида, (%)				
		1 день	1 неделя	2 недели	3 недели	4 недели
34	A	99,3	74,5	51,4	33,2	24,1
35	B	87,4	75,0	52,3	32,8	25,1
36	C	89,4	73,6	54,9	37,7	23,4

Таблица 5

Экспериментальный пример	Физиологически активный пептид	Модель линейной регрессии	Коэффициент корреляции R ²	Период высвобождения (недели)
34	A	Остаток (%) = 97,8 - (20,1 × число недель)	0,975	4,8
35	B	Остаток (%) = 83,5 - (18,6 × число недель)	0,971	5,0
36	C	Остаток (%) = 94,4 - (18,5 × число недель)	0,987	4,9

Таблица 6

Экспериментальный пример	Остаток физиологически активного пептида, (%)				
	День 1	неделя 1	Неделя 2	Неделя 3	Неделя 4
37	93,5±0,5	69,8±3,6	37,7±1,4	17,0±1,4	7,9±0,5

Таблица 7

Экспериментальный пример	Модель линейной регрессии	Коэффициент корреляции R ²	Период высвобождения (недели)
37	Остаток (%) = 95,0 - (24,1 × число недель)	0,969	3,9

Таблица 8

Экспериментальный пример	Остаток физиологически активного пептида, (%)						
	День 1	Неделя 1	Неделя 2	Неделя 3	Неделя 4	Неделя 5	Неделя 6
38	82,8	21,8	-	-	-	-	-
39	86,7	81,7	79,5	69,2	59,2	-	22,6
40	100,0	84,3	43,9	31,9	-	-	-
41	98,3	67,5	38,0	23,5	-	-	-

Таблица 9

Экспериментальный пример	Модель линейной регрессии	Коэффициент корреляции R ²	Период высвобождения (недели)
38	Остаток (%) = 97,1 - (75,7 × число недель)	0,984	1,3
39	Остаток (%) = 92,2 - (9,7 × число недель)	0,998	10,3
40	Остаток (%) = 102,4 - (24,8 × число недель)	0,982	4,1
41	Остаток (%) = 97,7 - (28,5 × число недель)	0,989	3,7

**DELPHION****RESEARCH****PRODUCTS****INSIDE DELPHION**

Log Out Work Files Saved Searches

My Account

Search: Quick/Number Boolean Advanced Derwent

The Delphion Integrated View: INPADOC RecordGet Now: PDF | File History | Other choices

Tools: Add to Work File: Create new Work File

View: Jump to: Top

Go to: Derwent

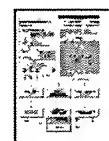
Email this to a

>Title: **RU2128055C1: PHARMACEUTICAL COMPOSITION OF THE DELAYED AGI
RELEASENING AND A METHOD OF ITS PREPARING**

Derwent Title: Sustained-release compsn. for hormone drugs, pref. LHRH antagonists, - contains biodegradable carboxyl-contg. polymer e.g. lactic acid glycolic acid copolymer, providing constant release of drug without initial burst [Derwent Record]

Country: RU Russian Federation

Kind: C1 Patent



High Res

Inventor: SIGERU KAMEI; Japan
JASUTAKA IGARI; Japan
JASIAKI OGAVA; Japan

Assignee: TAKEDA KEMIKAL INDASTRIZ LTD. Japan
[News, Profiles, Stocks and More about this company](#)

Published / Filed: 1999-03-27 / 1993-12-07

Application Number: RU1993095114533

IPC Code: Advanced: [A61K 38/04](#); [A61K 47/30](#);
Core: more...
IPC-7: [A61K 38/04](#); [A61K 47/30](#);

ECLA Code: None

Priority Number: 1992-12-07 JP1992000327070
1993-02-05 JP1993000018978
1993-12-07 WO1993000001773

Abstract: FIELD: medicine, pharmacy. SUBSTANCE: invention relates to a composition that has a physiologically active peptide of the general formula: where X means acyl-group; R1, R2 and R4 each means aromatic cyclic group; R3 means a residue of D-amino acid or a group of the formula where means heterocyclic group; R5 means a group of the formula where n = 2 or 3, and means amino-group that can be substituted optionally, aromatic cyclic group or O-glycosyl-group; R6 means a group of the formula where n = 2 or 3, and means amino-group that can be substituted optionally; R7 means a residue of D-amino acid or azaglycyl-residue; Q means hydrogen atom or lower alkyl-group, or its salt and biodegradable polymer bearing a terminal carboxyl-group. Composition is prepared by dissolving of components mixture in water-insoluble solvent followed by solvent removing. Preparation of delayed releasing ensures to obtain noncontinuous release of peptide for the long time without initial release as compared with the known similar compositions. EFFECT: improved method of preparing, enhanced effectiveness of composition proposed. 25 cl, 9 tbl, 45 ex

INPADOC Legal Status: None Get Now: [Family Legal Status Report](#)